

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
Facultad de Ciencias
Departamento de Geología y Geoquímica



**Desarrollo de materiales biohíbridos funcionales
mediante ensamblado de nanofibras de celulosa y
sepiolita**

TESIS DOCTORAL

María Del Mar González Del Campo Rodríguez-Barbero

Directores:

Prof. Eduardo Ruiz-Hitzky

Dra. Margarita Darder

Dra. Pilar Aranda



Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM), CSIC
Dpto. de Nuevas Arquitecturas en Química de Materiales

Junio, 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
Facultad de Ciencias
Departamento de Geología y Geoquímica



**Desarrollo de materiales biohíbridos funcionales
mediante ensamblado de nanofibras de celulosa y
sepiolita**

TESIS DOCTORAL

María Del Mar González Del Campo Rodríguez-Barbero

Directores:

Prof. Eduardo Ruiz-Hitzky

Dra. Margarita Darder

Dra. Pilar Aranda



Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM), CSIC
Dpto. de Nuevas Arquitecturas en Química de Materiales

Junio, 2017

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. Introducción general y objetivos

- 1.1. Introducción general
- 1.2. Materiales biohíbridos y bionanocomposites
- 1.3. Celulosa
 - 1.3.1. Estructura de la celulosa
 - 1.3.2. Procesos de desfibración de la celulosa y tipos de celulosas
 - 1.3.3. Bionanocomposites basados en nanocelulosas y arcillas
- 1.4. Sepiolita
- 1.5. Nanotubos de carbono
- 1.6. Nanopartículas de óxidos metálicos
 - 1.6.1. Nanopartículas de magnetita
 - 1.6.2. Nanopartículas de óxido de zinc

2. Materiales y métodos

- 2.1. Introducción
- 2.2. Materiales de partida
 - 2.2.1. Nanofibras de celulosa
 - 2.2.2. Sepiolita
 - 2.2.3. Nanotubos de carbono
 - 2.2.4. Nanopartículas de magnetita
 - 2.2.5. Nanopartículas de óxido de zinc
- 2.3. Métodos de preparación
 - 2.3.1. Preparación de biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa y sepiolita
 - 2.3.2. Preparación de biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanotubos de carbono
 - 2.3.3. Preparación de biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanopartículas de magnetita
 - 2.3.4. Preparación de biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanopartículas de óxido de zinc
 - 2.3.5. Modificación química del biohíbrido constituido por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanotubos de carbono mediante reacción de Malaprade
 - 2.3.6. Modificación química del biohíbrido constituido por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanotubos de carbono mediante reacción de silanización
- 2.4 Técnicas de caracterización
 - 2.4.1. Técnicas de microscopía electrónica
 - 2.4.1. a) Microscopía electrónica de barrido
 - 2.4.1. b) Microscopía electrónica de transmisión
 - 2.4.2. Microscopía confocal
 - 2.4.3. Microscopía de fuerza atómica
 - 2.4.4. Medidas de viscosidad
 - 2.4.5. Espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier
 - 2.4.6. Difracción de rayos X

- 2.4.7. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X
- 2.4.8. Resonancia Magnética Nuclear
- 2.4.9. Superficie específica y porosidad
- 2.4.10. Isotherma de adsorción de agua
- 2.4.11. Ángulo de contacto
- 2.4.12. Análisis Térmico
- 2.4.13. Propiedades mecánicas
- 2.4.14. Propiedades eléctricas
- 2.4.15. Propiedades magnéticas
- 2.4.16. Medidas de potencial Z
- 2.4.17. Espectroscopía UV-Visible

2.5. Estudio de las posibles aplicaciones de los materiales biohíbridos desarrollados

2.5.1. Medidas de variación de conductividad en función de la humedad relativa

2.5.2. Actividad fotocatalítica

3. Biohíbridos basados en nanofibras de celulosa y sepiolita

3.1. Síntesis y caracterización del biohíbrido CNF-SEP

3.2. Conclusiones

4. Funcionalización de biohíbridos basados en nanofibras de celulosa y sepiolita

4.1. Introducción

4.2. Biohíbridos CNF-SEP que incorporan nanotubos de carbono

4.2.1. Síntesis y caracterización

4.2.2. Aplicación del sistema biohíbrido CNF-SEP funcionalizado con MWCNT como fase activa de un sensor de humedad

4.3. Biohíbridos CNF-SEP funcionalizados con nanopartículas de magnetita

4.3.1. Síntesis y caracterización

4.4. Biohíbridos CNF-SEP funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc

4.4.1. Síntesis y caracterización

4.4.2. Actividad fotocatalítica

4.5. Conclusiones

5. Funcionalización química post-síntesis: perspectivas de aplicaciones futuras

5.1. Funcionalización química post-síntesis

5.2. Adsorción de especies contaminantes y otras aplicaciones potenciales

6. Conclusiones generales y perspectivas

ANEXO 1. Oxidación mediada por TEMPO y caracterización de las nanofibras de celulosa

Referencias bibliográficas

Abreviaturas

AFM	Microscopía de fuerza atómica
CNF	Nanofibras de celulosa
CNF-SEP	Material biohíbrido constituido por nanofibras de celulosa y sepiolita
CNF-SEP-MWCNT	Material biohíbrido constituido por nanofibras de celulosa, sepiolita y MWCNT
CNF-SEP-Fe ₃ O ₄	Material biohíbrido constituido por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanopartículas de magnetita
CNF-SEP-ZnO	Material biohíbrido constituido por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanopartículas de ZnO
DRX	Difracción de Rayos X
FE-SEM	Microscopía electrónica de barrido con emisión de campo
FTIR	Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier
NP	Nanopartículas
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SEP	Sepiolita
TEM	Microscopía electrónica de transmisión
TEMPO	Radical 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo
UV	Ultravioleta
XPS	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

1. INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS

1.1. Introduccion General

En la presente Tesis Doctoral se estudian aspectos relacionados con materiales denominados de tipo biohíbrido o bionanocomposite. En este primer capítulo se pretende dar una visión general de las características más relevantes de este tipo de materiales así como algunos de los avances más novedosos relacionados con los mismos, para después de una forma más específica, centrarse en aspectos relativos a materiales de tipo celulósico, con énfasis en las fibras de nanocelulosa, así como en arcillas, en concreto sepiolita, ya que son las partículas de base con las que se prepararán los materiales biohíbridos objeto de este estudio. Así mismo, se incluyen algunos detalles relativos a otros compuestos de interés en relación con el presente trabajo, ya que han sido incorporados en los materiales biohíbridos objeto de la Tesis para dotarles de ciertas funcionalidades específicas.

1.2. Materiales biohíbridos y bionanocomposites

En las últimas tres décadas los *materiales híbridos orgánicos-inorgánicos* han representado una de las áreas más fructíferas en el área de Ciencia y Tecnología de Materiales, dando lugar a multitud de nuevos materiales con una amplia gama de propiedades que han originado la aparición de gran número aplicaciones en diversos ámbitos como la microelectrónica, la óptica, el transporte, la salud, la energía, y el medio ambiente, entre otros (Sanchez y col. 2011). Estos materiales híbridos no están constituidos simplemente por la mezcla física de ambas especies, sino que debe darse un efecto sinérgico como consecuencia de la interacción a escala nanométrica entre ambas, obteniéndose un material final que presenta propiedades distintas a las que pueden presentar cada una de sus partes constituyentes por separado. (Gomez-Romero 2001; Ruiz-Hitzky y col. 2003; Ruiz-Hitzky y col. 2007; Ruiz-Hitzky y col. 2015). Dentro de este tipo de materiales se encuentran los *nanocomposites*, materiales compuestos constituidos por una fase continua (matriz) donde se incorpora una fase dispersa (carga) que tiene al menos una dimensión en la escala nanométrica. Entre los diferentes sistemas de materiales nanocomposites son de especial relevancia los que están constituidos por un polímero orgánico como fase continua y un sólido inorgánico nanoparticulado como agente o carga reforzante del polímero (Ruiz-Hitzky y col. 2009;

Lvov y col. 2016). En este contexto son de especial relevancia los denominados nanocomposites polímero-arcilla, no sólo por ser de los primeros nanocomposites desarrollados, sino por la variedad de sistemas estudiados y campos de aplicación en las que los mismos pueden ser empleados (Pinnavaia y Beall 2000).

Cuando el polímero empleado en la preparación de estos nanocomposites es un polímero de origen natural o sea un biopolímero, los materiales resultantes son conocidos como *bionanocomposites* (Ruiz-Hitzky y col. 2000). Un bionanocomposite se puede definir pues como un material *biohíbrido* nanoestructurado constituido por el ensamblado de un biopolímero y un sólido inorgánico particulado que presenta al menos una dimensión dentro de la escala nanométrica. Además de las características propias de otros materiales compuestos basados en polímeros, el hecho de que en este caso se trate de un biopolímero puede conferir al material resultante algunas de las características propias del mismo, como son biocompatibilidad y biodegradabilidad. Estas propiedades abren nuevas perspectivas para el desarrollo de materiales más respetuosos con el medio ambiente. Además, si se emplean especies inorgánicas también de origen natural, como pueden ser los silicatos pertenecientes a la familia de las arcillas, se obtienen materiales reciclables con posibles implicaciones no sólo en aplicaciones biomédicas, sino por ejemplo en usos como bioplásticos (Ruiz-Hitzky y col. 2007; Ruiz-Hitzky y col. 2010; Ruiz-Hitzky y col. 2010; Mittal 2011; Avérous y Pollet 2012). Como ocurre con otros nanocomposites basados en polímeros y arcillas, el mecanismo general que gobierna la interacción entre ambos componentes puede estar basado en mecanismos de enlace iónico, fuerzas de van der Waals o de ion-dipolo, interacciones por enlaces de coordinación, enlaces de hidrógeno, o por puentes de agua entre las partículas inorgánicas y el biopolímero (Aranda y col. 2004; Ruiz-Hitzky y col. 2008; Ruiz-Hitzky y col. 2015). En la bibliografía la mayor parte de ejemplos sobre materiales bionanocomposites son los que emplean arcillas laminares en lugar de las de tipo fibroso ya que las primeras son más conocidas y están más extendidas en la naturaleza, habiendo sido ampliamente empleadas por sus propiedades de barrera (Zhao y col. 2008; Wu y col. 2012; Kochumalayil y col. 2013), como absorbente de cadmio (Padilla-Ortega y col. 2016) etc. Una de las principales ventajas que puede presentar el hecho de emplear una arcilla fibrosa en lugar de una arcilla laminar, es que puede mostrar un mayor efecto de refuerzo y buena dispersión

como resultado de la íntima interacción entre la biofibra y la arcilla fibrosa con una superficie hidrofílica al igual que la de los biopolímeros (Ruiz-Hitzky y col. 2013).

Una atractiva estrategia para la preparación de materiales funcionales nanoestructurados biohíbridos, consiste en el ensamblaje a escala nanométrica, de dos o más tipos de nanomateriales, para crear una nueva funcionalidad a través de la interacción mutua entre los mismos (Ruiz-Hitzky y col. 2011; Shi y col. 2013). Esta metodología, junto con otro tipo de aproximaciones experimentales (manipulación de átomos/moléculas), se encuentra englobada bajo el término *nanoarchitectonics*, el cual hace referencia a un conjunto de metodologías que implica la organización de unidades estructurales, de una forma definida y controlada, para dar lugar a un material nanoestructurado a la escala nanométrica (Ariga y col. 2012). El término *nanoarchitectonics* fue propuesto y definido por Masakazu Aono en el año 2000 en el NIMS (Centre for Materials Nanoarchitectonics, National Institute for Materials Science) en Tsukuba, Japón y desde entonces ha cobrado gran importancia en la investigación actual sobre materiales (Ariga 2012; Ariga y col. 2015). Sólidos de baja dimensionalidad, tales como *clusters* de óxidos metálicos y nanopartículas, nanotubos de carbono, nanocelulosas, silicatos fibrosos y bio-filamentos, grafeno, silicatos laminares, calcogenuros y oxi-hidróxidos, son ejemplos de elementos constitutivos (o “*building blocks*”) susceptibles de ser ensamblados siguiendo metodologías del denominado tipo *bottom-up*, esto es, de abajo-arriba (Sanchez y col. 2011). Esta estrategia es conocida como ensamblado de bloques o *blocks-assembly* en inglés (también denominado *building-blocks approach*), dado que los componentes ya forman por sí mismos nanomateriales con un tamaño y forma, bien definidos, con interesantes propiedades físicas y químicas, las cuales van a ser la clave para la fabricación de un nuevo material funcional (Domingues y col. 2014; Gong y col. 2017). Se pueden encontrar multitud de ejemplos de nanoarquitecturas, que han sido sintetizadas mediante esta metodología, incluyendo aproximaciones sencillas como es el caso de la incorporación de nanopartículas de óxidos metálicos a arcillas fibrosas a través de los grupos silanol presentes en estas últimas, como por ejemplo el ensamblaje de Fe_3O_4 NPs presentes en un ferrofluido para dar lugar a heteroestructuras con propiedades superparamagnéticas y de adsorción, estas últimas debidas a la presencia de la arcilla, resultando materiales muy interesantes para un

gran número de aplicaciones, incluyendo como adsorbente para eliminación de contaminantes en aguas residuales o nanocarga magnética para polímeros (Gonzalez-Alfaro y col. 2011). En otros casos las aproximaciones pueden resultar más complejas como es el caso de la preparación de complejos recolectores de luz (*light harvesting*) que tratan de imitar a los complejos naturales, y que han sido obtenidos por ejemplo mediante el ensamblaje de péptidos y diferentes grupos cromóforos (Zou y col. 2016), o la obtención de estructuras quirales que, de nuevo, pretenden imitar a estructuras naturales como la doble hélice del DNA (Zhang y col. 2016). En los últimos años se ha producido un interés creciente en el uso de nanofibras de origen natural, hecho que puede ser atribuido a dos factores, por un lado, la necesidad de buscar nuevos materiales que procedan de fuentes renovables y por otro, a los avances realizados en las caracterizaciones de las mismas, así como, al desarrollo de metodologías que permiten modificar sus propiedades de superficie (Wicklein y Salazar-Alvarez 2013). Una de las principales características que presentan estas nanofibras naturales es que poseen una elevada densidad de grupos funcionales en su superficie como, por ejemplo, grupos hidroxilo en la celulosa o aminoácidos en el caso del colágeno o de las fibras de seda (Figura 1.1), lo que permite tener puntos específicos de posible modificación química facilitando, por tanto, el que se pueda controlar la afinidad de las especies susceptibles de ser adsorbidas, entre las que se encuentran, por ejemplo, polímeros (Wang y col. 2011), fármacos (Jackson y col. 2011), enzimas (Habibi y col. 2010) o nanopartículas (Martins y col. 2013).

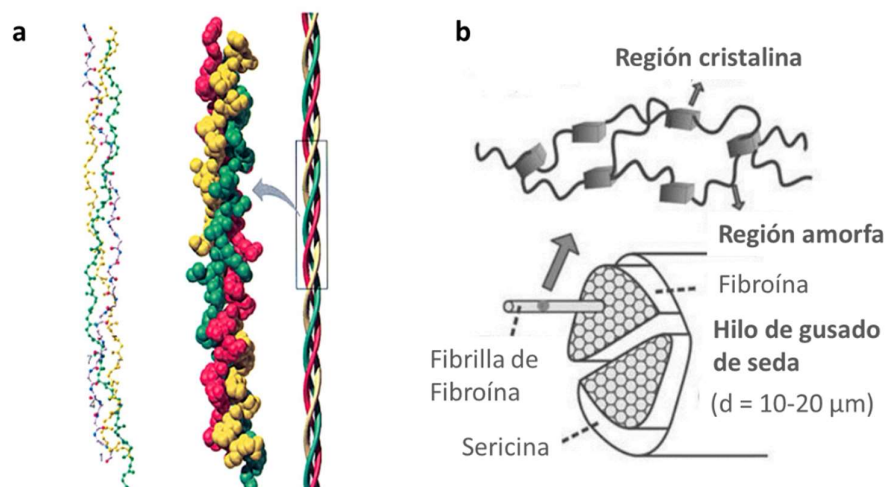


Figura 1.1. Esquemas de la estructura de a) colágeno (Copyright@2000 Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.), y b) fibra de seda (Liu y Zhang 2014).

El desarrollo de bionanocomposites basados en materiales nanofibrosos supone una aproximación ideal para la fabricación de materiales multifuncionales. La combinación de diversas fibras orgánicas de origen natural con fibras inorgánicas como pueden ser las de arcillas fibrosas del tipo de la sepiolita, permite obtener nuevos materiales que pueden presentar diferentes aplicaciones asociadas a sus diferentes propiedades siendo además respetuosos con el medio ambiente. Entre los ejemplos de aplicaciones relacionadas con este tipo de materiales se incluye el desarrollo reciente de aislantes térmicos, como el descrito por Wicklein y col., preparados mediante la liofilización de suspensiones de nanofibras de celulosa, óxido de grafeno y sepiolita para dar lugar a espumas ligeras que muestran una gran resistencia a la combustión y una conductividad térmica inferior a la que presentan otras espumas convencionales como las de poliestireno expandido (Wicklein y col. 2015). Por otro lado, Dihan Su y col. han descrito la preparación de hidrogeles híbridos constituidos por fibroína de seda y el silicato laminar sintético laponita, demostrando su interés potencial para aplicación en la regeneración de defectos óseos (Su y col. 2016). Bagheri y col. han descrito la preparación de hidrogeles constituidos por colágeno y del silicato laminar montmorillonita, estudiando su aplicación en la adsorción de diferentes colorantes. (Marandi y col. 2013). Fernandez y col. describen bionanocomposites constituidos por gelatina y sepiolita demostraron interesantes propiedades que de nuevo pueden ser

atribuidas a la interacción entre ambos, llegando a alcanzar una mejora de un 250% en el incremento del módulo elástico para materiales que contienen una carga del 50% de arcilla (Fernandes y col. 2011). El hecho de que la sepiolita tenga características morfológicas similares a las nanofibras de celulosa, hace pensar en una buena compatibilización entre ambos tipos de fibras que permite generar nuevos materiales biohíbridos con interesantes propiedades mecánicas y de barrera (Gamelas y Ferraz 2015).

1.3. Celulosa

Desde el punto de vista histórico, la celulosa y sus derivados han sido usados desde hace mucho tiempo por el hombre. Los bien conocidos *papiros* en el antiguo Egipto (aproximadamente en el año 3100 AC), han supuesto la aplicación inicial más conocida de la celulosa. La palabra papiro deriva del nombre de una planta acuática (*Cyperus papyrus*) muy común en el río Nilo a partir de la cual se fabricaba este material. Los egipcios de aquella época usaban el papiro como material para escribir, pero además lo empleaban en la construcción de otros objetos como botas, cuerdas, sandalias, cestas y alfombras. El papiro fue utilizado por otras culturas mediterráneas para escribir, antes de la introducción del papel en Oriente Medio y en Europa. El precursor del papel que conocemos hoy en día surgió como una invención china en el año 105. Aunque la palabra papel es etimológicamente derivada de “papyrus” hay una diferencia entre ambos en cuanto a su forma de producción. En el “papiro” se compactan directamente las fibras naturales de las plantas, mientras que en el papel, las fibras han sido tratadas previamente por vía química y mecánica (Hon 1994).

El término “*celulosa*” aparece por primera vez en 1839 en un ensayo de Anselme Payen, de la Academia Francesa sobre materia leñosa (“ligneous matter”). Este químico describió en 1838 que la materia leñosa, hasta entonces considerada una sustancia única, contenía dos materiales químicamente distintos. Payen describió un sólido fibroso resistente que se mantenía después del tratamiento de diferentes tejidos de plantas con ácidos y amoníaco, y su posterior extracción con agua, alcohol y éter. Determinó mediante análisis elemental, que su fórmula molecular debía de ser

$C_6H_{10}O_5$, y observó la similitud con el almidón (Payen 1838). Con el paso del tiempo se han desarrollado diferentes productos derivados de celulosa con modificaciones químicas producidas a escala industrial (Balser y col. 1986; Krässig y col. 1986), generando nuevos materiales basados en celulosa procedente de la madera conformados como recubrimientos, películas, membranas, materiales de construcción, excipientes en la industria farmacéutica y de alimentación, etc. A pesar de que la celulosa comenzó a cobrar cada vez más importancia como materia prima, su estructura fue desconocida durante mucho tiempo. Hacia 1920 Hermann Staudinger observó que la estructura de la celulosa no consistía en la simple agregación de unidades de D-glucosa, sino que estas unidades estaban unidas covalentemente formando cadenas de elevado peso molecular. En este mismo periodo, Kurt Heinrich Meyer y Herman Mark con información de difracción de rayos X propusieron en 1930 aspectos estructurales de las fibras tal y como se conocen hoy (Zugenmaier 2009; Patterson 2012; Cantow y Mülhaupt 2013).

1.3.1. Estructura de la celulosa

La celulosa es un homopolímero de alto peso molecular constituido por unidades de β -D-glucopiranosas unidas mediante enlaces O-glucosídicos de los respectivos carbonos 1 y 4. Las unidades de D-glucopiranosas se encuentran giradas unas con respecto a otras 180° . El segmento que se repite “n” veces es conocido como celobiosa (Figura 1.2).

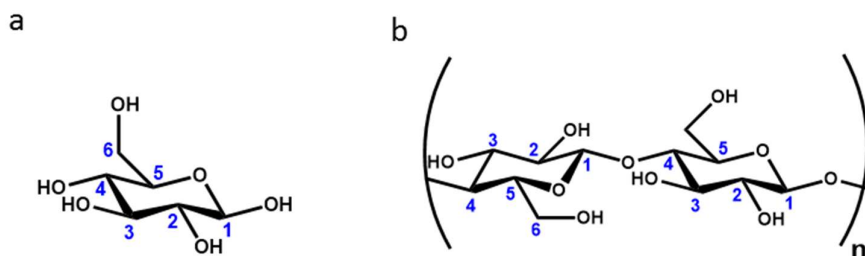


Figura 1.2. Estructura química de a) β -D-glucopiranosas y b) celobiosa.

El valor de “n” puede variar entre 10.000 y 15.000, siendo dependiente de la procedencia de la celulosa. Cada cadena de celulosa presenta una asimetría química, ya que uno de sus extremos es reductor (hemiacetal) y el otro es no reductor (grupo hidroxilo). Las unidades de β -D-glucopiranososa adoptan la conformación de silla y como consecuencia, los grupos hidroxilo se encuentran dispuestos en posiciones ecuatoriales (o plano del anillo), mientras que los átomos de hidrógeno se disponen en posición axial (o vertical al plano del anillo). La estructura se encuentra estabilizada por puentes de hidrógeno intramoleculares, que van desde el O(3')-H, hidroxilo de una unidad, al O(5) de otra unidad y desde el O(2)-H, hidroxilo al O(6'), hidroxilo de la siguiente unidad (Figura 1.3).

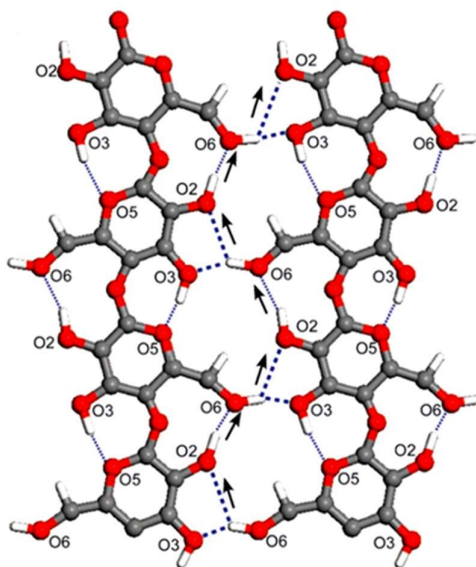


Figura 1.3. Esquema de la distribución de puentes de hidrógeno intra- e intermoleculares (Moon y col. 2011).

La celulosa en la naturaleza está constituida por cadenas sencillas de celulosa que han sido ensambladas durante el proceso de biosíntesis, que comienza con las moléculas individuales que van siendo polimerizadas en los sitios específicos de un complejo enzimático conocido como *Complejo Terminal*, que se encuentra situado en la pared celular, y presenta diferentes sitios catalíticos. Estos complejos enzimáticos pueden adoptar diferentes configuraciones, que van a ser las responsables de las diferentes arquitecturas que pueden adoptar las microfibras resultantes. Así, por ejemplo, en

árboles adopta una disposición de roseta constituido por 6 unidades, mientras que, en bacterias, tunicados y algas presenta diferentes disposiciones lineales (Habibi y col. 2010). De forma general, aproximadamente 36 moléculas de celulosa se agrupan en unidades más grandes conocidas como *fibrillas elementales o protofibrillas*, que a su vez se agrupan generando las *microfibras* (que pueden tener entre 2 y 20 nm de sección transversal dependiendo de la procedencia de la celulosa), y estas a su vez, se vuelven a ensamblar dando lugar a las *fibras de celulosa* (Figura 1.4.a).

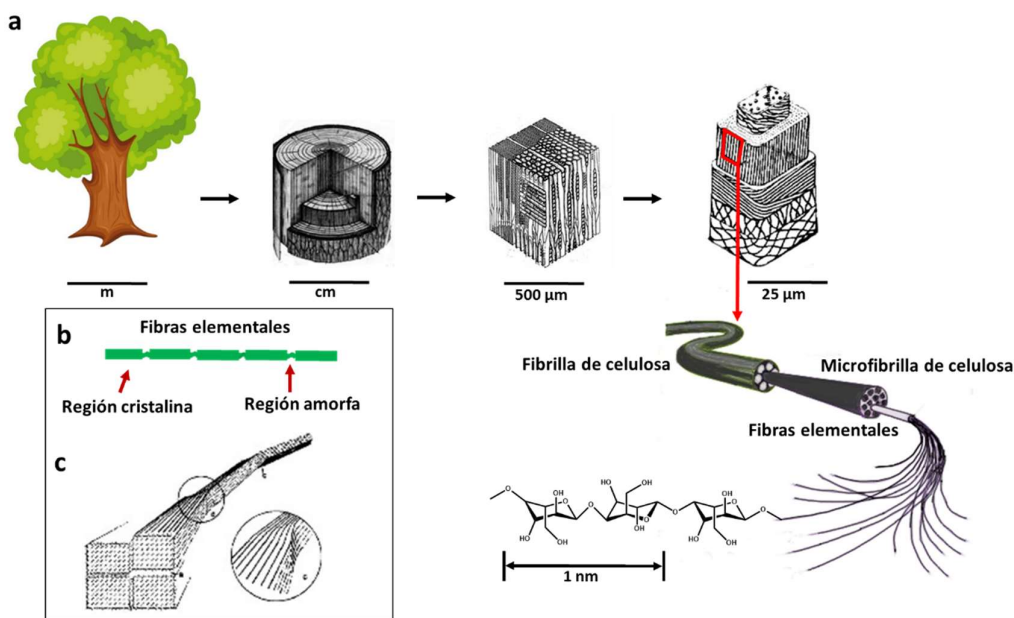


Figura 1.4. Esquemas de a) la estructura jerárquica de las fibras de celulosa, b) la estructuración de las fibras elementales constituidas por regiones cristalinas y amorfas, y c) una fibra elemental de celulosa dónde se pueden apreciar las regiones distorsionadas por la presencia de tensiones (Rowland y Roberts 1972).

La agregación entre fibras se produce mediante fuerzas de Van der Waals y la unión intra- e inter-molecular se lleva a cabo mediante enlaces de hidrógeno. Existen regiones amorfas distribuidas a lo largo de la fibra elemental (Figura 1.4.b) que producen una desviación en pequeños segmentos a lo largo de ésta dando lugar a una distorsión de la estructura de la fibra elemental por tensiones internas, lo que origina que se inclinen y retuerzan (Figura 1.4.c). En las regiones cristalinas las cadenas de celulosa se encuentran fuertemente empaquetadas y estabilizadas por una densa red

de enlaces de hidrógeno. La orientación molecular y la red de estos enlaces puede variar dando lugar a varios alomorfos de celulosa, predominando unos u otros en función del origen de la celulosa, y del método de extracción empleado. Se han identificado seis polimorfos de la celulosa: I, II, III_I, III_{II}, IV_I y IV_{II}. La celulosa nativa, presenta a su vez dos alomorfos, denominados I α y I β . El I α es el predominante en algas y bacterias, y el I β en plantas superiores (Figura 1.5) (Habibi y col. 2010).

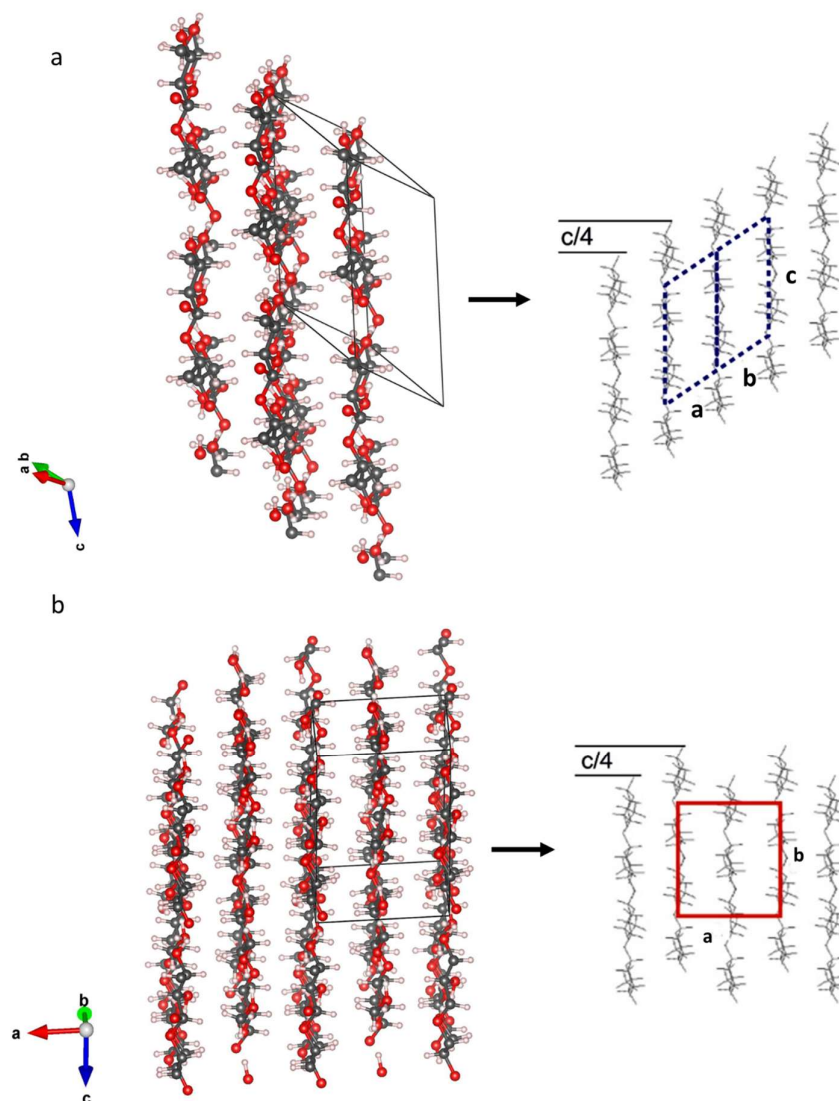


Figura 1.5. Representación esquemática de la celdilla unidad de las estructuras I α (a) y I β (b) de la celulosa, donde puede apreciarse que el desplazamiento de los enlaces de hidrógeno en I α es de $+c/4$ y en I β va alternando $+c/4$ y $-c/4$ (Poletto y col.).

I α es una fase metaestable que puede convertirse en I β , la fase termodinámicamente estable a temperatura ambiente, mediante un incremento de la

temperatura en diferentes medios (Carlsson y col. 2015). El resto de polimorfos son obtenidos tras someter la celulosa a diferentes tratamientos. Brevemente, la celulosa II se obtiene después de la recristalización o regeneración con hidróxido sódico de la celulosa I. Las celulosas III_I y III_{II} son obtenidas tras el tratamiento de las celulosas I y II con amoníaco líquido seguido de evaporación (proceso reversible). Finalmente, los polimorfos IV_I y IV_{II} son derivados de las celulosas III_I y III_{II}, respectivamente, tras ser calentadas a 206°C en glicerol (Figura 1.6).

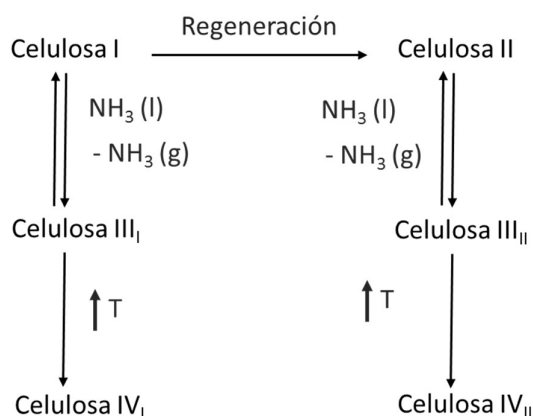


Figura 1.6. Esquema de los procesos de obtención de los diferentes polimorfos de la celulosa nativa.

1.3.2. Procesos de desfibración de la celulosa y tipos de celulosas

A finales de 1970 y comienzos de 1980, Sandberg y colaboradores del ITT Rayonier, empresa dedicada a la producción de papel en Estados Unidos, fueron los pioneros en producir *celulosa microdesfibrada* (conocida por sus siglas en inglés como MFC “*microfibrillated cellulose*”) (Klemm y col. 2011). El proceso consistió en pasar una suspensión de fibras de celulosa procedentes de madera, a través de un dispositivo mecánico (homogeneizador de alta energía) el cual produce la liberación de las microfibras (Klemm y col. 2011). El principal problema que planteó este proceso, fue el elevado consumo de energía. Este problema fue resuelto poco después, produciéndose la celulosa microdesfibrada a partir de pulpa de madera que se hacía pasar por este mismo dispositivo mecánico tras haber realizado un tratamiento químico sobre la misma, el cual consistió en ser mezclada con hidróxido sódico y

sulfato sódico para obtener la llamada *pulpa Kraft*, mediante el también conocido como *proceso Kraft*. Mezclándola con sales de ácido sulfúrico se obtiene una celulosa conocida como *pulpa de sulfito*. Además, se ha observado que el proceso de separación mecánica de las fibras se veía facilitado cuando se adicionaban polímeros hidrofílicos tales como carboximetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, ácido poliacrílico, carragenanos o goma guar, requiriéndose así también una menor energía para completar el proceso (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Comparativa de los valores aproximados del requerimiento energético para la producción de MFC a partir de distintos procesos (Klemm y col. 2011).

Pretratamiento	Tipo de pulpa, Blanqueada	Requerimiento energético (kWh/t)
Ninguno	Kraft	12.000-70.000
Ninguno	Sulfito	27.000
Carboximetilación (DS = 0,1) [a]	Kraft/Sulfito	500
Enzymatico/refinamiento	Sulfito	1.500

[a] DS = Grado de sustitución (“DS” indica el número medio de grupos hidroxilos del anillo de glucosapiranosos que son sustituidos después de la reacción. Los valores se encuentran entre 0 y 3, donde 3 indicaría que los tres grupos hidroxilos están sustituidos).

El éxito de la aplicación de pretratamientos químicos supuso un punto de inflexión, a partir del cual aparece un gran número de investigaciones que se han centrado en dotar de carga a las fibras para favorecer el proceso de desfibración, apareciendo multitud de patentes tanto para grupos con cargas positivas como negativas. La introducción de grupos carboxilato en la superficie de las MFC se convierte en un proceso ampliamente usado. Este consiste en la oxidación selectiva de los grupos hidroxilo primarios presentes en la celulosa. Desarrollado por Isogai y colaboradores (Saito y col. 2007), el proceso se conoce como oxidación de celulosa a través del reactivo TEMPO, y constituye uno de los procesos actualmente más empleados para la obtención de nanofibras de celulosa (CNF). El TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo) es un radical nitroxilo estable, comercialmente disponible y soluble en agua que permite realizar oxidaciones catalíticas de grupos hidroxilos en aldehídos, cetonas o grupos ácidos. En la Figura 1.7, se muestra el esquema de la

reacción producida con este agente oxidante. El hidroxilo del carbono 6 es oxidado a carboxilato por el sistema TEMPO/NaBr/NaClO en agua a pH 10-11. El proceso de oxidación puede ser monitorizado en todo momento por el consumo de NaOH, que debe ser continuamente adicionado a la mezcla para mantener el pH en 10 durante el proceso de oxidación. Modificando la cantidad de NaClO se obtienen diferente grado de oxidación, y por tanto diferente contenido de carboxilato sódico en las fibras resultantes. Aunque en pequeñas cantidades, también se producen grupos aldehídos. Además, el tratamiento con TEMPO genera una reducción del grado de polimerización de las fibras, así, en el caso del tratamiento de la pulpa Kraft con TEMPO, y diferentes cantidades de NaClO 5-10 mmol·g⁻¹ el grado de polimerización pasa de 1200 a 600, lo que significa que es inevitable cierta despolimerización durante el tratamiento con TEMPO/NaBr/NaClO en agua a pH 10.

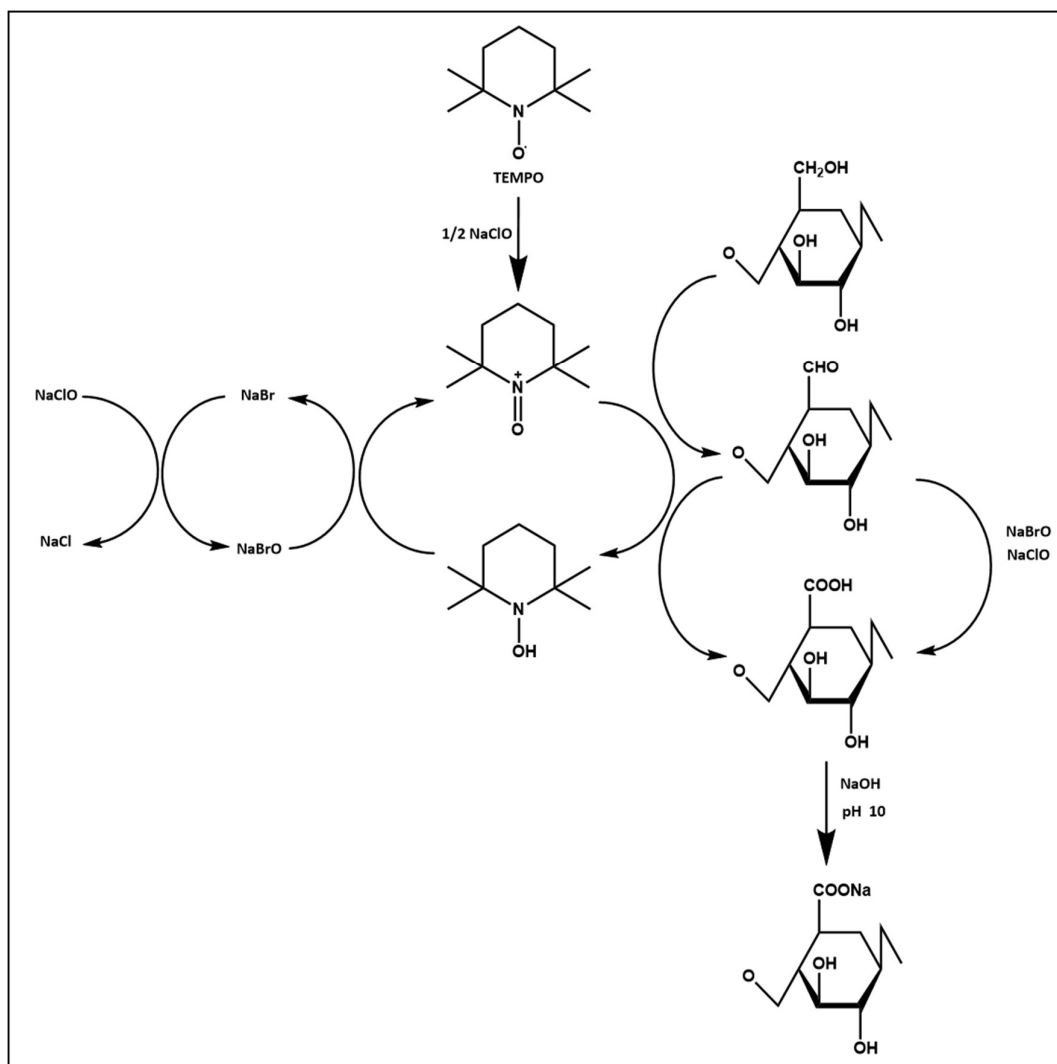


Figura 1.7. Oxidación regioselectiva del hidroxilo primario situado en el C6 de la celulosa por tratamiento con el sistema TEMPO/NaBr/NaClO en agua a pH 10-11.

Otro de los procesos empleados para reducir el consumo energético del proceso de desfibración consiste en la combinación de una hidrólisis enzimática y un refinamiento mecánico. La enzima empleada en este caso es una endoglucanasa, como por ejemplo la comercializada con el nombre Novozym 476 (Henriksson y col. 2007; Pääkkö y col. 2007). Estos procesos de desintegración de fibras para obtener elementos de menor tamaño dan lugar a una familia de materiales conocidos como *nanocelulosas* y dentro de la cual, se pueden encontrar diferentes tipos en función del

origen, y del método de obtención. En la Tabla 1.2 se resumen los distintos tipos de nanocelulosas y sus parámetros dimensionales típicos.

Tabla 1.2. Tipos de nanocelulosa, sinónimos empleados en la terminología relativa a las mismas y rangos característicos de dimensiones para cada tipo (Klemm y col. 2011).

Tipos de nanocelulosa	Sinónimos en la nomenclatura	Tamaño medio
CNF (nanofibras de celulosa)	celulosa microfibrilada, nanofibras y microfibras, celulosa nanofibrilada	diámetro: 5-60 nm longitud: micrómetros
CNC (nanocristales de celulosa)	celulosa nanocristalina, cristales de nanocelulosa	diámetro: 5-70 nm longitud: 100-250 nm (si procede de plantas) o 100 -varios μm (si procede de algas, bacterias o tunicados)
BNC (Nnnocelulosa bacteriana)	celulosa bacteriana, celulosa microbiana, biocelulosa	diametro: 20-100 nm

Los nanocristales de celulosa o celulosa nanocristalina (CNC) son obtenidos mediante hidrólisis ácida de celulosas procedentes de diferentes fuentes (madera, plantas, MCC, tunicados, algas y bacterias). En general, este proceso supone hidrolizar las regiones amorfas que se encuentran formando parte de las microfibras para desagregar éstas. El ácido más empleado es el ácido sulfúrico porque permite generar carga negativa en la superficie de las nanopartículas generadas, dando lugar a suspensiones más estables (Moon y col. 2011). Las nanocelulosas presentan diferente aspecto y propiedades como puede apreciarse en las imágenes de microscopia mostradas en la Figura 1.8.

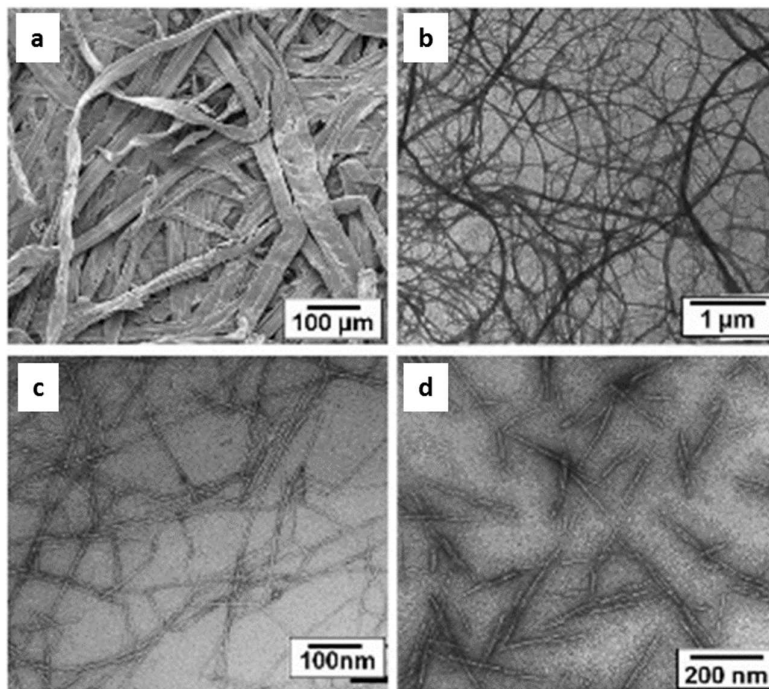


Figura 1.8. Aspecto de diferentes tipos de celulosas: a) imagen SEM de fibras procedentes de pulpa Kraft e imágenes TEM de b) MFC, c) CNF obtenida utilizando TEMPO y d) CNC procedente de fibras de madera (Moon y col. 2011).

Las nanofibras de celulosa o celulosa nanofibrilada están constituidas por regiones cristalinas y amorfas, las cuales muestran una elevada relación longitud-anchura (Figura 1.9). Las suspensiones de CNF a bajas concentraciones tienen el aspecto de geles cuya transparencia varía en función del grado de separación de las fibras, teniendo la capacidad de formar películas que pueden mostrar interesantes propiedades mecánicas, por ejemplo, un elevado módulo de Young (15-150 GPa) (Carpenter y col. 2015) además de que su superficie puede ser modificada químicamente.

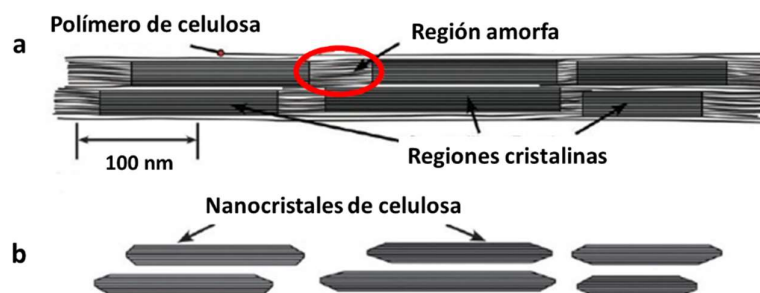


Figura 1.9. a) Estructura hipotética donde se muestra la microfibrila constituida por regiones cristalinas y amorfas, b) nanocristales de celulosa resultantes tras disolver las regiones amorfas mediante hidrólisis ácida (Moon y col. 2011).

Las partículas en las fibras CNC son mucho más cortas que en las CNF, pudiendo presentar también interesantes propiedades mecánicas, p.ej., valores de módulo de Young también elevados (50-143 GPa) (Carpenter y col. 2015), además de alta cristalinidad (54-88 %). En este caso también se puede modificar químicamente su superficie y a ciertas concentraciones sus suspensiones se comportan como un cristal líquido. Este comportamiento puede esperarse de cualquier partícula asimétrica que presente forma de barra o lámina. Dada la rigidez de los cristales de CNC y su morfología en forma de barra, que presenta un giro helicoidal similar a un tornillo (Figura 1.10 1), el mismo induce que en las suspensiones las partículas tengan una misma orientación, generando una fase nemática de planos apilados y alineados a lo largo de un eje perpendicular. Cada plano a su vez se encuentra girado por un ángulo de fase que varía con la concentración, por lo que dicho alineamiento puede dar como resultado bandas ópticas que originan un comportamiento iridiscente, el cual puede ser visto como textura de Schlieren entre polarizadores debido a la birrefringencia de dominios individuales.

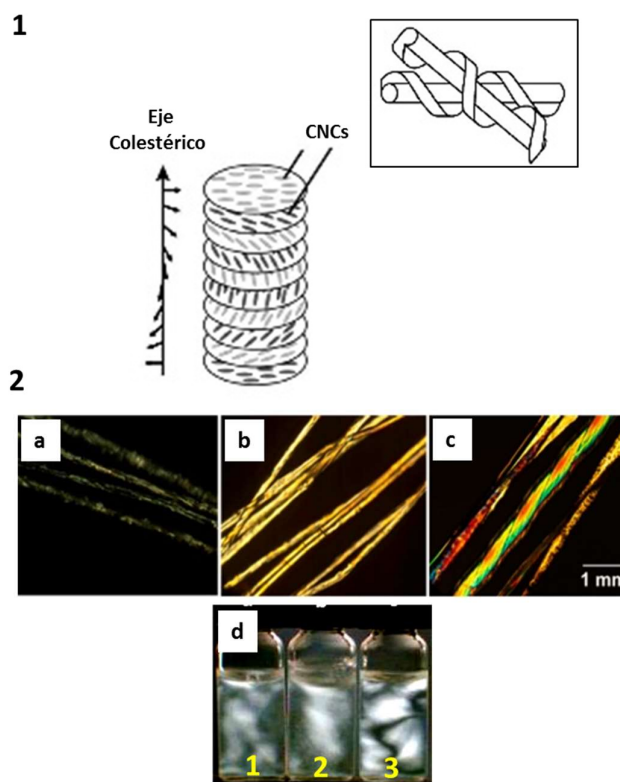


Figura 1.10. 1) Giro de los cristales de CNC y alineamiento en torno al eje colestérico en una suspensión de CNC (Moon y col. 2011) y, 2) visualización a través de un microscopio óptico iluminado con luz polarizada para visualizar fibras de CNC en presencia de acetato de celulosa con un contenido del 1% (a), 10% (b) y 34% (c) en CNC (Chen y col. 2014), y d) imágenes de birefringencia de una suspensión en agua de CNC (1) y de CNC liofilizada y resuspendida en agua (2) y en DMF (3) (Siqueira y col. 2010).

El tratamiento con ultrasonidos puede ser relevante en los procesos de desfibración de celulosa. Es bien conocido que los ultrasonidos constituyen un método que permite la reducción del tamaño de partícula en dispersiones y emulsiones debido a su potencial para desagregar como consecuencia de los efectos mecánicos de la cavitación. La cavitación ultrasónica en líquidos puede producir una desgasificación completa de una suspensión; puede iniciar reacciones químicas, mediante la generación de radicales, puede acelerar reacciones facilitando la mezcla de los reactivos; puede favorecer el proceso de polimerización o despolimerización por dispersión temporal de los agregados o por romper permanentemente los enlaces químicos; se pueden generar emulsiones de dos líquidos inmiscibles o dispersiones de materiales de tamaño micrométrico o nanopartículas; se puede emplear para la

extracción de sustancias tales como enzimas de plantas, levaduras o células bacterianas; y puede también erosionar y descomponer partículas sensibles, incluidos microorganismos. Se conoce como cavitación a la formación, crecimiento y colapso de burbujas en el seno de un líquido. Estas burbujas surgen como consecuencia de la propagación de una onda sónica, en ciclos de alta y baja presión generándose burbujas de vacío en los ciclos de baja presión que, una vez alcanzan el volumen al cual no pueden absorber más energía, colapsan violentamente en los de alta presión. Este fenómeno produce un intenso calentamiento local (≈ 5000 K), altas presiones (≈ 1000 atm) y grandes velocidades de calentamiento y enfriamiento ($\geq 10^9$ K/s) y caudales de líquido (≈ 400 km/h) (Hielscher 2005). Además, en la bibliografía se pueden encontrar diversos trabajos en los que se describe la aplicación de ultrasonidos para romper las paredes celulares en las que encontramos las fibras de celulosa (Nechyporchuk y col. 2016) y que han sido empleados en la desfibración de otros tipos de fibras de origen natural (Zhao y col. 2007), o para obtener nanocristales a partir de fibras de celulosa (Guo y col. 2016), así como para asistir reacciones en la superficie de los propios cristales originados (Tang y col. 2013). La energía suministrada en el proceso de cavitación suele encontrarse en el rango de 10 a 100 kJ/mol, intervalo dentro de cual se encuentra también la energía característica de los enlaces por puentes de hidrógeno. En este sentido la Figura 1.11 muestra el esquema de actuación de los ultrasonidos en la celulosa para romper interacciones entre las distintas regiones presentes en sus fibras.

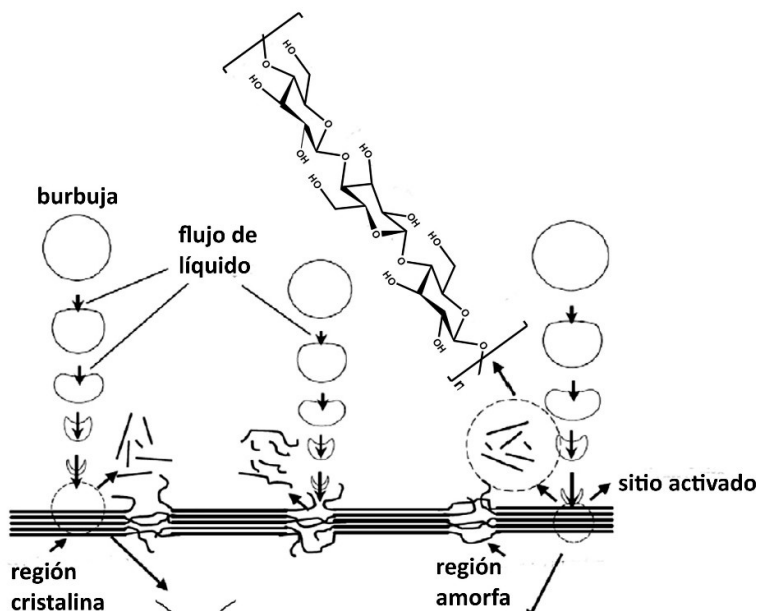


Figura 1.11. Diagrama esquemático de la actuación de los ultrasonidos en el proceso de desfibración de celulosa (Li y col. 2012).

Entre las principales aplicaciones de las nanocelulosas se encuentran: el refuerzo de matrices poliméricas como puede ser ácido poliláctico (Urbina y col. 2016), poliuretano (Mi y col. 2016), alcohol polivinílico (Li y col. 2012), alginato (Abdollahi y col. 2013), etc.; su uso como plantilla (o “templates” en inglés) en la síntesis de otros materiales, como, por ejemplo, varios tipos de óxidos metálicos (Korhonen y col. 2011); como puntos de nucleación de nanopartículas magnéticas (Zeng y col. 2014), de oro (Liu y col. 2015), o de plata (Dong y col. 2013); como soporte de nanopartículas de ZnO (Lizundia y col. 2016), de CNT (Koga y col. 2013), de Fe_3O_4 (Li y col. 2013), etc.; y en el desarrollo de una gran variedad de composites, como, por ejemplo, de CNC con nanopartículas de plata y cera de abejas para obtener propiedades antibacterianas y resistencia al agua en papel (Liu y col. 2016), o bionanocomposites de CNF y bentonite (Gabr y col. 2013) con propiedades mecánicas mejoradas. También es de destacar el uso de las nanocelulosas en la preparación de materiales para aplicaciones biomédicas (Lin y Dufresne 2014), por ejemplo, para ingeniería de tejidos y en el desarrollo de injertos vasculares (Klemm y col. 2011; Domingues y col. 2014), para usos en la cicatrización de heridas (Fu y col. 2013), para la liberación controlada de fármacos

(Jorfi y Foster 2015), o para desarrollar plataformas para inmunoensayos (Orelma y col. 2012).

1.3.3. Bionanocomposites basados en nanocelulosas y arcillas

El uso de nanocelulosas en la preparación de nanocomposites, ha ido creciendo rápidamente en los últimos años debido a la tendencia a emplear materias primas renovables y biodegradables. Se pueden encontrar diversos trabajos que describen la preparación de materiales híbridos del tipo nanocelulosa-arcilla. Algunas de las posibles razones de esta intensa investigación pueden ser, por un lado, la gran abundancia y disponibilidad de ambos compuestos y por otro, la gran versatilidad de los mismos, pudiéndose encontrar un gran número de referencias a materiales basados en ellos para muy distintas aplicaciones. En este apartado se pretende dar una visión general sobre los biohíbridos nanocelulosa-arcilla a través de diferentes ejemplos. Uno de ellos es la obtención de fibras textiles con una mayor resistencia al fuego a partir algodón y residuos de cartón con montmorillonita (White 2004). Muchos de los ejemplos que se pueden encontrar emplean arcillas de tipo laminar o sea esmectitas como bentonitas (Gabr y col. 2013), montmorillonita (Aulin y col. 2012; Wu y col. 2012; Trifol y col. 2016) o saponita (Wu y col. 2014), obteniéndose materiales biocomposites caracterizados por unas buenas propiedades de barrera al agua y a gases, buena transparencia y propiedades mecánicas mejoradas lo que los hace muy atractivos en la industria del envasado. También se pueden encontrar ejemplos que utilizan arcillas de tipo fibroso como sepiolita, obteniéndose igualmente materiales no sólo con mejoras en el mismo tipo de propiedades (Soheilmoghaddam y col. 2014), sino que pueden ofrecer otras ventajas como es el caso de propiedades aislantes (Wicklein y col. 2015). Una de las ventajas que puede presentar el emplear una arcilla fibrosa frente al uso de una arcilla laminar es su dimensionalidad. Las arcillas laminares son sólidos 2D que pueden ser intercaladas y a veces exfoliadas facilitando su interacción con polímeros dando lugar a nanocomposites, mientras que las arcillas fibrosas son sólidos 1D que para dispersarse en la matriz polimérica sólo requieren una buena compatibilidad con la misma. En muchos bionanocomposites los polímeros

implicados son hidrofílicos, como es el caso de las nanocelulosas, lo que es previsible de una buena compatibilidad con este tipo de arcillas cuya superficie externa está recubierta de grupos hidroxilos enlazados a átomos de silicio de la estructura del silicato (grupos silanoles, Si-OH). A pesar de esto, son pocos los trabajos que se pueden encontrar en la bibliografía en los que se describa la preparación de bionanocomposites basados en CNF y sepiolita.

1.4. Sepiolita

La sepiolita es un mineral que pertenece a la familia de las arcillas, de origen sedimentario. Su nombre se deriva de la palabra “sepia” por su similitud morfológica con los huesos de este cefalópodo. La sepiolita es un silicato natural de magnesio hidratado que presenta una morfología fibrosa y cuya fórmula general es $[\text{Si}_{12}\text{O}_{30}\text{Mg}_8(\text{OH},\text{F})_4](\text{H}_2\text{O})_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (Brauner y Pressinger 1956; Santarén y col. 1990). El tamaño de sus fibras varía dependiendo de su origen encontrándose generalmente de entre 2 y 10 μm de largo y 100 y 300 nm de diámetro, al menos en el caso de las arcillas procedentes de la cuenca del Tajo en España, uno de los depósitos conocidos más abundantes en este mineral (Galán y Singer 2011). La estructura de cada fibra está constituida por la alternancia secuencial de bloques, cada uno de ellos formado por capas tetraédrica-octaédrica-tetraédrica (Td-Oh-Td). La capa octaédrica está formada por Mg^{2+} coordinado a átomos de oxígeno, flúor y grupos hidroxilos y presenta discontinuidades debido a la inversión regular en la orientación de las capas Td. Todo esto origina la presencia de túneles (de dimensiones 1,08 x 0,4 nm², considerando su sección transversal (Brauner y Pressinger 1956) y canales en la parte externa de la fibra donde, la discontinuidad de enlaces en los tetraedros de silicio determina además la presencia de un elevado número de grupos silanoles ($\equiv\text{Si-OH}$) regularmente dispuestos a lo largo de la superficie externa de la fibra (Ruiz-Hitzky 1974). Los iones Mg^{2+} situados en las aristas de los túneles y canales completan su coordinación con átomos de oxígeno de la estructura del silicato y de moléculas de agua (agua coordinada). Los túneles de la estructura de la sepiolita contienen además otras moléculas de agua, denominada agua zeolítica, que puede ser eliminada y puede permitir el acceso a

compuestos orgánicos de pequeño tamaño molecular (Ruiz-Hitzky 2001). En la Figura 1.12 puede apreciarse un esquema de la estructura cristalina de la sepiolita (obtenido con el software VESTA, version3 ®2006-2014, Koichi Momma and Fujio Izumi (Momma y Izumi 2011)).

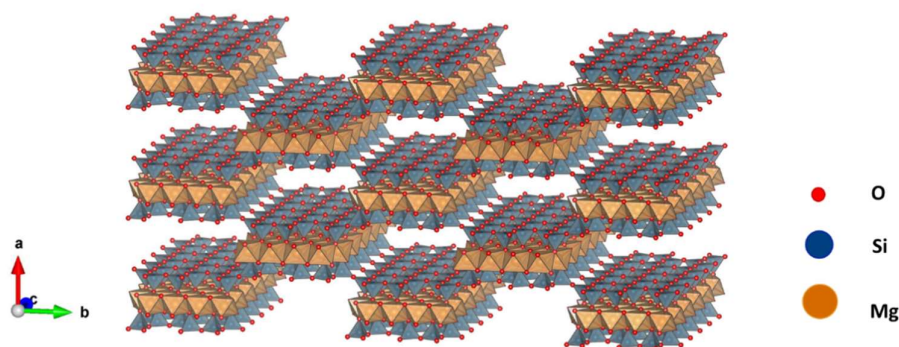


Figura 1.12. Estructura cristalina de la sepiolita.

La presencia de un pequeño número de sustituciones isomórficas dotan a este mineral de propiedades de cambio iónico, siendo su capacidad de cambio catiónico del orden de 0,15 meq/g. Debido a la estructura con cavidades nanoporosas de túneles y canales, la sepiolita presenta una alta superficie específica, siendo esta de aproximadamente 320 m²/g. Esta gran superficie por unidad de masa hace que la sepiolita posea una elevada capacidad de adsorción. Quizás una de las aplicaciones más conocidas de esta arcilla, es su uso como lecho adsorbente para animales domésticos (camas de gatos) que aprovecha su elevada capacidad de absorción de líquidos, así como sus características adsorbentes de distintos compuestos para procurar la eliminación de olores. Desde que comenzó a ser usado para este tipo de aplicación, hace más de cuatro décadas, los usos industriales de la sepiolita se han incrementado y sofisticando considerablemente, usándose como soporte en aerosoles y aerogeles para pesticidas y fertilizantes, en la producción de piensos para animales, donde se usa como aditivo aglomerante (E-562), en la purificación de productos de petróleo, en procesos de filtración, floculación y clarificación, junto con el aprovechamiento por sus propiedades reológicas en diversos usos como aditivo en farmacia, pinturas, resinas, cosmética, cerámicas, etc (Ruiz-Hitzky y col. 2011). Además

de estas, existe otra multitud de aplicaciones, en las que la sepiolita forma parte de materiales más avanzados. La presencia de los grupos silanoles en su superficie externa, hace posible su funcionalización que permite dotarlas de nuevas propiedades (Ruiz-Hitzky y col. 2011), lo que puede ser aprovechado para favorecer su interacción con polímeros o macromoléculas, generando materiales híbridos o biohíbridos como los del tipo de previamente descritos en la sección 1.2. Aunque de pequeño tamaño, es posible insertar especies orgánicas en los túneles de la sepiolita (Ruiz-Hitzky 2001), como por ejemplo piridina (Kuang y col. 2003), por lo que este mineral puede ser usado como tamiz molecular. Asimismo, se pueden incorporar diferentes tipos de nanopartículas en su superficie, siguiendo diferentes metodologías, que incluyen desde la generación de las mismas a partir de diversos precursores, su ensamblado directo con nanopartículas previamente formadas, entre otros (Aranda y Ruiz-Hitzky 2016). Así, por ejemplo, el uso de organosepiolitas en presencia de las cuales se generan de manera controlada nanopartículas de dióxido de titanio a partir de un alcóxido permite obtener materiales nanoestructurados de naturaleza puramente inorgánica tiene gran interés en procesos de absorción, catálisis y fotocatalisis. (Aranda y col. 2008). En otros casos, es posible dotar a la sepiolita con propiedades superparamagnéticas mediante el ensamblaje a la misma de nanopartículas de magnetita a partir de un ferrofluido, y al mantenerse las propiedades adsorbentes del mineral permite obtener un material adsorbente fácilmente recuperable del medio con la ayuda de un imán (Gonzalez-Alfaro y col. 2011). Recientemente también se ha descrito la incorporación de nanopartículas de ZnO utilizando una sepiolita modificada con cationes hexadeciltrimetilamonio (CTAB), de forma que el sólido organofílico se puede dispersar fácilmente en 2-propanol para incorporar nanopartículas de ZnO recién preparadas en este medio a partir de acetato de zinc, al objeto de obtener materiales de interés en fotocatalisis (Akkari y col. 2016). La sepiolita puede actuar también como refuerzo de matrices poliméricas y biopoliméricas directamente o tras ser modificada convenientemente en su superficie para favorecer su interacción con las mismas (Ruiz-Hitzky y col. 2015). Todos estos ejemplos muestran claramente como la sepiolita es un silicato natural de la familia de las arcillas fibrosas que posee unas características estructurales y morfológicas que lo convierten en un material versátil con gran incidencia en el desarrollo de multitud de materiales avanzados.

1.5. Nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono (CNT) están constituidos por redes hexagonales de carbono curvadas y cerradas, en las que el carbono presenta hibridación sp^2 . Desde su descubrimiento en 1991 por Iijima (Iijima 1991) han desencadenado un gran interés tanto desde un punto de vista de la investigación fundamental como de la aplicada, debido a sus propiedades electrónicas, elevada área superficial, baja absorción óptica, inercia química, estabilidad térmica y elevada resistencia mecánica. Estas propiedades dependen de varios factores como son el tamaño, el número de paredes, la concentración, la presencia y tipo de defectos que puedan incorporar, así como de la estrategia sintética empleada para su obtención. Los CNT pueden ser multipared (MWCNT), constituidos por al menos dos capas, que suelen presentar diámetros internos de 4 nm, o constituidos por una única pared (SWCNT). Estos últimos fueron sintetizados después del descubrimiento de los MWCNT (Iijima y Ichihashi 1993) y son tubos individuales que presentan un diámetro interno muy pequeño (~ 1 nm) (Figura 1.13).

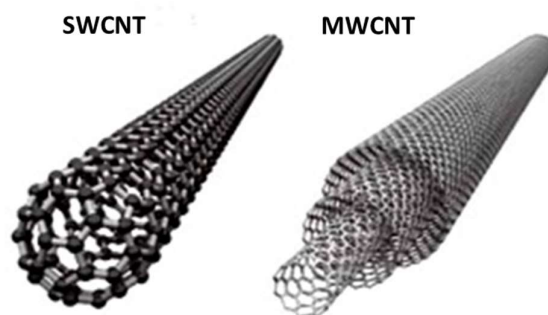


Figura 1.13. Esquema de la estructura química de los nanotubos de carbono de pared única (SCNT) y de multipared (MWCNT) (Cividanes y col. 2014).

Al principio de los años 90 del siglo pasado, varios grupos de investigación predijeron las propiedades electrónicas a partir de cálculos realizados para los SWCNT, encontrando que estos se podrían comportar como metales o semiconductores, dependiendo de su quiralidad y diámetro (Hamada y col. 1992; Saito y col. 1992; Saito y col. 1992). A finales de esa década, una serie de experimentos lo confirmaron (Odom

y col. 1998; Wildoer y col. 1998). Las aplicaciones potenciales de los CNT son enormes incluyendo transistores (Franklin y col. 2012), dispositivos de emisión de campo (Shearer y col. 2012), altavoces (Xiao y col. 2008), fotodetectores (Nanot y col. 2013), en el caso de los SWCNT y películas conductoras (Mirri y col. 2012), y supercondensadores (Simon y Gogotsi 2008) para ambos tipos de CNT. Este número de aplicaciones se incrementa cuando se combinan con otros materiales, obteniéndose materiales funcionales. Esta combinación se puede realizar mediante dos metodologías, la primera consiste en el recubrimiento del CNT con un segundo material con el que se puede establecer un contacto interfacial íntimo para formar un híbrido (por ejemplo, recubrimiento del CNT con nanopartículas), que son conocidos como materiales híbridos de nanocarbono (“nanocarbon hybrids”). La segunda consiste en la dispersión de los CNT en una matriz constituida por el segundo material generando un nanocomposite, son conocidos como composites de nanocarbono (“nanocarbon composites”). (Shearer y col. 2014). Estos nanocomposites permiten combinar las propiedades intrínsecas de cada componente, como, por ejemplo, las propiedades ópticas de un polímero con la conductividad eléctrica del CNT, generando películas transparentes, conductoras y con mejores propiedades mecánicas. Actualmente existen composites comerciales basados en CNT en productos como baterías de ión litio, materiales destinados a las industrias náutica, aeroespacial y del automóvil, equipamiento deportivo y materiales ignífugos (De Volder y col. 2013).

1.6. Nanopartículas de óxidos metálicos

El término nanopartícula es reciente pero sin embargo se han encontrado vestigios de que ya se empleaban hace mucho tiempo. Alguno de los ejemplos más conocidos son los bellos efectos de coloración que se obtenían en cristal o materiales cerámicos debido a la presencia por ejemplo de nanopartículas de oro de tamaño coloidal (Colomban 2009; Hashim 2012). El gran interés que despertaron las nanopartículas a partir del siglo XX y que hace que hoy en día sigan siendo objeto de estudio es consecuencia de dos razones: a) el área superficial del nanomaterial es mayor en comparación con los mismos materiales a escala macroscópica, lo cual da

lugar a un incremento de la reactividad química, b) existen efectos específicos en sus propiedades eléctricas y mecánicas, entre otras, por lo que optimizando el tamaño y la forma de las partículas es posible modular las propiedades de los materiales nanoparticulados. Debido al efecto del tamaño pueden aparecer además nuevos comportamientos que no pueden ser explicados con las leyes de la física clásica, siendo necesario recurrir a la mecánica cuántica. Desde la famosa frase de Feynman en 1959 (“There’s plenty of room at the bottom”), se han desarrollado muchos tipos de nanopartículas incluyendo metálicas, bimetálicas, óxidos metálicos, de semiconductores e incluso de materiales compuestos, habiendo desarrollado para ello un gran número de aproximaciones sintéticas y explorado un amplio rango de aplicaciones para las mismas. Incluyen, entre otras aplicaciones, diversos tipos de recubrimientos, sistemas de descontaminación de agua, nanodiamantes para moldes de micro-inyección (Santos y col. 2015), usos en sensores electroquímicos y biosensores (Luo y col. 2006), aditivos de protección UV en cosméticos, filtros de color para las pantallas de cristal líquido (Stark y col. 2015), como fase activa en terapias contra el cáncer (por ejemplo, hipertermia), como identificador de proteínas, como agente de contraste de imagen en biomedicina, como soporte para el transporte de fármacos, en ingeniería tisular, como marcadores fluorescentes (Salata 2004), etc.

1.6.1 Nanopartículas de magnetita

Los óxidos de hierro presentan diferentes fases en la naturaleza, siendo los más comunes la magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Estos tres óxidos son importantes tecnológicamente, presentando multitud de aplicaciones como recubrimientos (Santos y col. 2015), en tintas magnéticas (Zhou y col. 2016), en sistemas de grabación magnética (Almeida y col. 2016), en catálisis (Dos Santos Coelho y col. 2008; Sadiq y col. 2014), o como fase activa de ferrofluidos (Susan-Resiga y Vékás 2016). Otra aplicación importante de los óxidos de hierro está relacionada con su empleo como agente de contraste en la obtención de imágenes por resonancia magnética en biomedicina, como agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer por hipertermia, como marcadores celulares, como soporte en liberación dirigida y/o

controlada de fármacos (Indira y Lakshmi 2010), fase activa de biosensores (Fattah y col. 2017), etc. En este apartado se van a describir con más detalle algunas de las características más relevantes de la magnetita, dado que este óxido de hierro ha sido el compuesto de elección para asociar a los materiales biohíbridos objeto de esta Tesis Doctoral a fin de dotarlos de propiedades magnéticas.

La magnetita presenta una estructura cristalina de tipo espinela inversa (Figura 1.14 a). Su fórmula, Fe_3O_4 , puede escribirse en la forma $\text{Fe}^{3+}[\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}]\text{O}_4$, según la fórmula general XY_2O_4 del grupo espinela. La estructura espinela está basada en un empaquetamiento cúbico compacto de oxígeno con los cationes en los intersticios tetraédricos y octaédricos. Los cationes X ocupan 1/8 de las 64 (=8) posiciones tetraédricas (por celda unitaria de la espinela) y los cationes Y ocupan 1/2 de las 32 (=16) posiciones octaédricas (por celda unitaria). Los iones Fe^{3+} se distribuyen, por tanto, en dos posiciones diferentes de la red, pero con direcciones opuestas del espín magnético. Los iones Fe^{2+} (con menor momento magnético $4\mu\text{B}$, mientras que Fe^{3+} presenta un momento magnético de $4\mu\text{B}$) son responsables del espín no apareado neto y, por tanto, de los dominios magnéticos permanentes en la magnetita. Esta imanación neta es considerablemente menor que en el caso de ser paralelos los momentos magnéticos de todos los cationes, como sucede en el hierro nativo imanado, que es ferromagnético. La temperatura de Curie de la magnetita es 580°C , por encima de la cual el ordenamiento magnético desaparece completamente (Klein y Cornelius S. 2003).

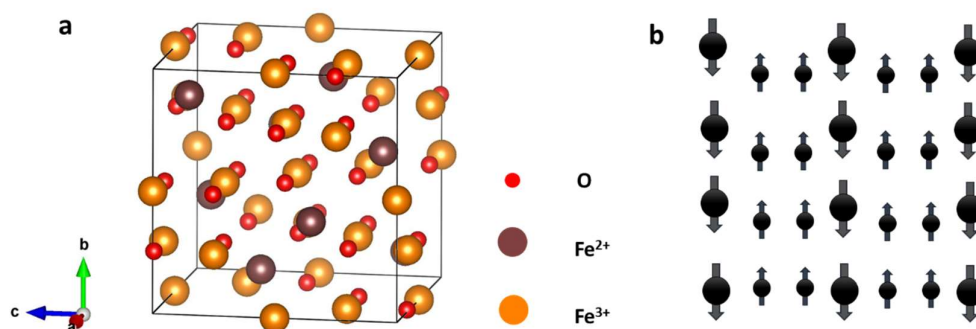


Figura 1.14. Estructura cristalina de la magnetita (Fe_3O_4) (a) y ordenamiento de los espines de los átomos de hierro presentes en esa misma estructura (b).

A medida que se comienza a reducir el tamaño de las partículas de estos óxidos, comienzan a producirse cambios en sus propiedades magnéticas; para tamaños del orden de unas decenas de nanómetros, en materiales ferri- o ferromagnéticos aparece un único dominio magnético y por consiguiente un elevado momento magnético (Indira y Lakshmi 2010). Las nanopartículas de magnetita con tamaños inferiores a 10 nm son superparamagnéticas a temperatura ambiente (Teja y Koh 2009). Esta dependencia del tamaño, junto con la observación de que modificaciones químicas de su superficie, afectan a la coercitividad de estas nanopartículas, ha dado lugar a diferentes métodos de preparación de las mismas con objeto de modular dichas propiedades magnéticas (Indira y Lakshmi 2010). Un gran número de trabajos han descrito la incorporación de las nanopartículas de magnetita en diferentes tipos de materiales compuestos, así por ejemplo, asociados a diferentes tipos de arcillas ha permitido obtener materiales con propiedades duales: magnéticas y adsorbentes, que pueden ser empleados en procesos de eliminación de diferentes tipos de contaminantes en agua. Otros ejemplos de materiales nanoestructurados que combinan magnetita y arcillas incluyen el uso de la arcilla nanotubular conocida como halloysita que da lugar a sistemas de interés en procesos de descomposición de contaminantes orgánicos (Tsoufis y col. 2017), o sepiolita para obtener adsorbentes activos en la eliminación del colorante safranina (Fayazi y col. 2015), etc. También existen otros materiales compuestos en los que se han incorporado nanopartículas de

magnetita asociados a diferentes polímeros, como por ejemplo, acetato de celulosa para desarrollar adsorbentes activos en la eliminación de plomo en aguas contaminadas (Shalaby y col. 2017), o a celulosa bacteriana para obtener adsorbentes de iones cromo en disolución (Stoica-Guzun y col. 2016). En este último ejemplo el uso de celulosa de origen bacteriano, la misma puede actuar como sustrato donde se pueden albergar moléculas o pequeñas partículas, que en este caso han sido generadas in situ, originando materiales híbridos. Del mismo modo, se ha incorporado magnetita a nanofibras de celulosa y dado que estas fibras, además de sus interesantes propiedades mecánicas, presentan gran potencial para ser funcionalizadas, hace que las películas resultantes puedan ser especialmente atractivas para desarrollar otras propiedades adicionales (Li y col. 2013). Así mismo, se pueden encontrar otros materiales nanocomposites más complejos a los que se les han incorporado las nanopartículas de magnetita, como es el caso del material híbrido constituido por hidroxietil celulosa/bentonita/magnetita que presenta propiedades de actividad antifúngica (Alekseeva y col. 2017). El híbrido constituido por quitosano/hidroxiapatito/magnetita es empleado en varias aplicaciones biomédicas como, por ejemplo, el desarrollo de materiales para injertos óseos (Heidari y col. 2016). Igualmente el material híbrido constituido por quitosano/bentonita/magnetita tiene aplicaciones biotecnológicas como la inmovilización enzimática para incrementar su termoestabilidad y facilitar su recuperación (Basak y col. 2013). Estos ejemplos muestran la gran capacidad de modificación y/ o combinación con otras partículas y compuestos, que presentan las nanopartículas de magnetita permitiendo generar gran cantidad de materiales funcionales que ofrece un gran potencial de posibles campos aplicativos de interés.

1.6.2 Nanopartículas de óxido de zinc

El ZnO es un semiconductor tipo II-VI cuyo *band gap* o separación energética entre la banda de valencia y la de conducción es de 3,4 eV, es decir, que se pueden producir transiciones de electrones entre ambas por absorción de radiación en la región del UV cercano. El óxido de zinc cristaliza preferencialmente con una estructura hexagonal de tipo wurtzita (Klingshirn 2007). En la Figura 1.15 aparece una representación de dicha estructura cristalina.

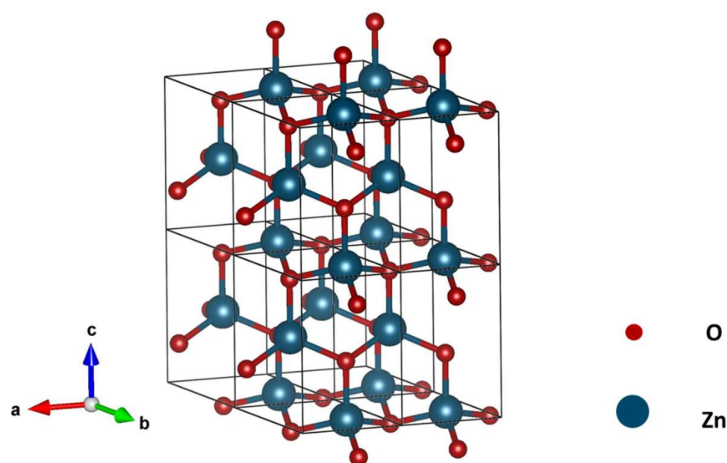


Figura 1.15. Estructura cristalina del ZnO tipo wurtzita.

Las nanopartículas de ZnO han generado un gran interés en los últimos años debido a su amplia aplicabilidad en diferentes campos, como son los de la electrónica (Han y col. 2017), óptica (Gong y col. 2017), agricultura (Chhipa 2017), y biomedicina (Anbuvannan y col. 2015; Mirzaei y Darroudi 2017). En esta última área es especialmente interesante su actividad antibacteriana tanto ante bacterias gram-positivo como gram-negativo (Agarwal y col.). El ZnO tiene también propiedades piezoeléctricas y piroeléctricas, convirtiéndolo en un material prometedor para dispositivos de tipo optoelectrónico, espintrónico y piezoeléctrico (Wang Lin 2004; Van Son y col. 2013). Al igual que otras nanopartículas existen un gran número de ejemplos de materiales compuestos que incorporan nanopartículas de ZnO. Entre otros

ejemplos se encuentran arcillas como la sepiolita a fin de obtener materiales con capacidad de degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos (Akkari y col. 2016), o celulosas nanodesfibradas utilizadas para fabricar papel con propiedades antibacterianas (Martins y col. 2013). Estas aplicaciones y otras muchas más demuestran la aplicabilidad de este tipo de nanopartículas. En esta Tesis Doctoral se ensamblarán nanopartículas de ZnO a los materiales biohíbridos desarrollados para conferirles propiedades de fotoactividad con aplicaciones en descomposición fotocatalítica de contaminantes orgánicos en aguas residuales.

2. Objetivos de la Tesis Doctoral

El principal objetivo de esta Tesis Doctoral es el desarrollo de un nuevo grupo de nanoarquitecturas biohíbridas basadas en el ensamblaje de dos tipos de nanofibras resultante del entrecruzamiento (en inglés, *cross-assembly*) de fibras de nanocelulosa (CNF) y fibras de sepiolita (SEP). Ambos tipos de fibras, a la escala nanométrica poseen un parecido sorprendente cuando se examinan con técnicas de microscopía electrónica (FE-SEM, por ejemplo). Para lograr dicho ensamblaje se pretende aplicar una estrategia de síntesis clasificada como de tipo *bottom-up*, con el objetivo de obtener un nuevo tipo de material funcional *per se* y que además sea susceptible de aprovechar la capacidad de funcionalización que ofrecen ambos componentes fibrosos, debido a la presencia de grupos funcionales en sus superficies, para transformarlos en nuevos materiales multifuncionales. El conformado del material biohíbrido resultante en forma de película, debe permitir la obtención de un nuevo tipo de *nanopapel híbrido* con propiedades diferentes a las que presenta el denominado *nanopapel*, que está constituido exclusivamente por nanocelulosa. Su caracterización físico-química dará información sobre las interacciones como consecuencia del ensamblaje de ambos tipos de fibras, así como sobre su posible estructuración y principales características físico-químicas.

Cómo segundo objetivo se busca la funcionalización mediante la incorporación de diferentes tipos de nanopartículas, lo que permitirá modular su funcionalidad, que lógicamente deberá estar relacionada con la naturaleza de la nanopartícula que sea

incorporada. Así, se abordará la incorporación de nanotubos de carbono a fin de obtener un material biohíbrido de nanocelulosa y sepiolita que exhiba además conductividad eléctrica. Se incorporarán también nanopartículas de óxidos metálicos, como magnetita, para obtener un material biohíbrido de nanocelulosa y sepiolita con propiedades magnéticas, y asimismo, nanopartículas de ZnO, para obtener un material biohíbrido de nanocelulosa y sepiolita que presente propiedades fotocatalíticas.

Finalmente se intentará realizar una caracterización individualizada de cada uno de los materiales funcionales resultantes y un estudio de las propiedades finales de los mismos con vistas a su posible uso en aplicaciones donde la funcionalidad incorporada pueda ser convenientemente aprovechada. Así, en el caso de la incorporación de nanotubos de carbono se buscará alcanzar un material que mantenga una buena conductividad eléctrica y se buscará la optimización de esta propiedad controlando la concentración de los nanotubos para alcanzar umbrales de percolación que permitan aprovechar la conductividad junto con las propiedades de adsorción del material híbrido con la idea de aplicarlos como fases activas de sensores. En el caso de la incorporación de nanopartículas de magnetita en el material biohíbrido, se tratará de que se mantengan sus propiedades magnéticas, mientras que en el caso de la inmovilización de nanopartículas de óxido de zinc se buscará proveer a los materiales biohíbridos de fotoactividad con potencial interés como fotocalizadores para aplicación en remediación ambiental.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Introducción

En el desarrollo de esta Tesis Doctoral, se han preparado diferentes materiales biohíbridos basados en celulosa, mediante combinación con una arcilla de tipo fibroso conocida como sepiolita. Además, se han incorporado diversas nanopartículas a estos biohíbridos permitiendo dotarlos de diferentes tipos de funcionalidad. En concreto, los materiales celulosa-sepiolita se han funcionalizado con nanotubos de carbono, nanopartículas de magnetita, así como con nanopartículas de óxido de zinc, siguiendo en cada caso los protocolos que se detallan a continuación en este capítulo. En él, se describen asimismo las diferentes técnicas de caracterización físico-química que han sido empleadas en el estudio de los materiales preparados, así como los ensayos realizados para evaluar su posible uso en dispositivos sensores de humedad o como fotocatalizadores para la degradación de contaminantes en aguas.

2.2. Materiales de partida

2.2.1. Nanofibras de celulosa

Las nanofibras de celulosa (CNF) utilizadas en este trabajo fueron suministradas por el grupo LEPAMAP (Laboratori d'Enginyeria Paperera i Materials Polímers) de la Universidad de Gerona, quienes las prepararon mediante oxidación de pulpa de eucaliptus mediante el radical *2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil* conocido como TEMPO, siguiendo el procedimiento previamente descrito por Saito y col. (Saito y col. 2007). La metodología seguida, detallada en el trabajo publicado por Delgado-Aguilar y col. (Delgado-Aguilar y col. 2015), así como las distintas técnicas utilizadas para la caracterización de las nanocelulosas preparadas por este método se recogen en el Anexo 1 de esta Tesis Doctoral. En la Tabla 2.1 se resumen las principales características de las celulosas empleadas en el desarrollo del presente trabajo.

Tabla 2.1. Principales características físico-químicas de las dos CNF empleadas en este trabajo.

Nomenclatura	CNF5	CNF14
Concentración de NaClO empleada en el tratamiento (mmol/g)	3	15
Contenido en grupos carboxílicos en la CNF (mmol/g)	0,517	1,279
Rendimiento de la reacción (%)	90	95
Demanda catiónica ($\mu\text{eq}\cdot\text{g/g}$)	824	1850
Valor de retención de agua (g/g)	4,8	10,8
Transmitancia (%) (800 nm)	6,5	95
Grado de polimerización (DP)	370	342

Además de las propiedades previamente descritas, se midió el potencial Z de las nanocelulosas preparadas. Para ello fue necesario diluir ambos geles en agua desionizada a una concentración del 0,0009 % m/v, usando un baño de ultrasonidos y la ayuda de un “vortex” para conseguir la adecuada dispersión de los mismos. El equipo empleado fue el analizador de tamaño de partícula NanoBrook 90Plus PALS, de Brookhaven Instruments. Se empleó el electrodo BI-ZEL, adecuado para medidas en medio acuoso, y se utilizaron cubetas desechables de poliestireno de 4,5 mL (1 cm de paso óptico). El resultado promedio de las 5 medidas realizadas para cada muestra se recoge en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Potencial Z de las CNFs empleadas.

Gel	Potencial Z (mV)		
	Media	Desviación Std.	Error Std.
CNF5	- 28,24	4,38	1,96
CNF14	- 37,01	2,83	1,27

En el desarrollo de esta tesis, se ha empleado principalmente la nanocelulosa CNF5 para la preparación de los materiales híbridos, por lo que a lo largo del texto la nomenclatura CNF hará principalmente referencia a las nanofibras de celulosa CNF5. Con algunas técnicas de caracterización, se han observado diferencias entre los materiales basados en CNF5 y CNF14, por lo que se indicarán los resultados obtenidos

para ambas. En el momento que haya que hacer distinción de ambas, se hará indicando la muestra involucrada (CNF o CNF14), según corresponda.

2.2.2. Sepiolita

En el desarrollo de este trabajo se ha empleado una sepiolita procedente de los yacimientos de la zona Vallecas-Vicálvaro (Madrid), con un grado de pureza estimado en el 95% y comercializada como un producto de grado reológico conocido como Pangel®S9, habiendo sido generosamente suministrada por la empresa Tolsa S.A. La composición química de esta sepiolita se encuentra indicada en la Tabla 2.3. Esta muestra de arcilla presenta un valor de superficie específica, determinada mediante cálculos BET a partir de las isothermas de adsorción de nitrógeno, de 320 m²/g de los cuales 150 m²/g corresponden a la superficie externa. Su capacidad de cambio catiónico es de aproximadamente 15 meq/100 g. [Ruiz-Hitzky, J. Mater. Chem. 2001].

Tabla 2.3. Composición química de la sepiolita empleada en este trabajo (Santos de Alcântara 2013).

	SiO ₂	Al ₂ O ₃	MgO	Na ₂ O	MnO ₃	CaO	K ₂ O	F ⁻
Sepiolita	62,5%	1,2%	25,2%	0,09%	0,50%	0,4%	0,3%	~1%

2.2.3. Nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono multipared (MWCNT) fueron suministrados por DropSens. Estos MWCNT han sido producidos mediante un proceso de deposición química en fase de vapor y tienen un contenido del 95% en carbono, empleándose como se han recibido sin ningún tipo de tratamiento. Estos MWCNT presentan un diámetro medio de 10 nm y una longitud media de 1,5 µm y mayoritariamente tienen los extremos abiertos.

2.2.4. Nanopartículas de magnetita

Las nanopartículas de magnetita (Fe₃O₄) utilizadas fueron suministradas por Aldrich (CAS: 1317-61-9), y presentan un tamaño de partícula < 50 nm y una pureza ≥ 98%.

2.2.5. Nanopartículas de óxido de zinc

Las nanopartículas de ZnO fueron sintetizadas en el laboratorio siguiendo el protocolo de síntesis previamente descrito por Akkari y col. (Akkari y col. 2016). En un experimento típico 1,650 g de acetato de zinc dihidratado se mezclan con 84 mL de metanol, se mantiene en agitación magnética durante 20 minutos bajo reflujo, tras lo cual se incorpora una disolución metanólica de KOH al 2,1% m/v (0,983 g de KOH en 46 mL de metanol). Esta mezcla de acetato de zinc con hidróxido de potasio se mantiene dos horas bajo reflujo y agitación magnética, tras lo cual, el gel obtenido se separa del líquido sobrenadante mediante centrifugación (4000 rpm, 10 minutos). A continuación, el gel se lava tres veces con etanol, siendo seguidamente empleado en la preparación de otros materiales híbridos. En este trabajo, se llevó a cabo su ensamblado con los materiales híbridos celulosa nanodesfibrada–sepiolita previamente preparados.

2.3. Métodos de preparación

2.3.1. Preparación de biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa y sepiolita

En primer lugar, es necesario conseguir la adecuada dispersión de ambos tipos de fibras; por ello, los productos de partida (CNF y sepiolita) se dispersaron inicialmente de forma independiente. La dispersión de CNF fue preparada al 0,5 % m/v. En el caso de la sepiolita, se prepararon varias dispersiones con diferente contenido en arcilla (entre 0 y 100 mg). En ambos casos, las dispersiones se realizaron en agua, aplicando agitación magnética. A continuación, se procedió a la mezcla de ambas dispersiones y seguidamente se homogeneizó dicha mezcla empleando para ello un equipo Ultra-Turrax (IKA®T25) trabajando a 11.400 rpm durante 10 minutos. En una segunda etapa se aplicó irradiación de ultrasonidos a la mezcla, empleando el equipo Vibra Cell VC 750 (750 W, 20 KHz) equipado con una punta de titanio de 13 mm de diámetro. La energía total aplicada fue de 1 kJ con una amplitud del 50%, realizando el tratamiento de forma pulsada, con pulsos de 10 segundos (la energía es aplicada durante 10 segundos tras lo cual deja de aplicarse durante otros 10 segundos, y se sigue repitiendo este ciclo hasta alcanzar el valor correspondiente a la energía total

fijada para el proceso). La finalidad de aplicar la energía de forma pulsada es evitar sobrecalentamientos de las muestras. Tras estos tratamientos, se obtiene un gel homogéneo que puede ser conformado mediante diferentes procesos. Uno de ellos es por evaporación del disolvente o “*solvent casting*”, para lo cual se depositan 20 mL de gel en una placa Petri de poliestireno de 50 mm de diámetro y se deja secar bajo condiciones de temperatura y humedad relativa controladas, empleando para ello una cámara Climacell EVO modelo 111 L. Las condiciones optimizadas fijadas para el secado fueron 30°C y 60% de humedad relativa (HR), para un tiempo de 72 horas. Las películas así obtenidas presentan un espesor de unos 0,050 mm. El segundo proceso de conformado fue efectuado por filtración a vacío, empleando en este caso un filtro Millipore VSWP (ésteres de celulosa, hidrofílicos) con 0,025 μm de tamaño de poro. Las condiciones de secado de las películas resultantes fueron similares a las indicadas anteriormente. Los espesores de las películas obtenidas partiendo en todos los casos de 20 mL de gel fueron también de unos 0,050 mm.

2.3.2. Preparación de los biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanotubos de carbono

Para la preparación de este tipo de bionanocomposites es necesario dispersar los componentes en diferentes etapas. En primer lugar, se prepara una dispersión acuosa de CNF al 0,5% m/v empleando el sistema de homogeneización Ultra-Turrax (IKA®T25) a 11.400 rpm durante 10 minutos. A continuación, se trata con ultrasonidos empleando para ello el equipo Vibra Cell VC 750 (750 W, 20 KHz), equipado con una punta de titanio de 13 mm de diámetro, y aplicando una energía total de 2 kJ con pulsos de 10 segundos. Por otro lado, se preparan suspensiones de sepiolita con diferentes cantidades de arcilla (entre 50 y 80 mg) y MWCNT (cantidades de entre 1 y 36 mg) en 10 mL de agua, bajo irradiación de ultrasonidos para favorecer la dispersión de ambos, aplicando una energía total de 1 kJ con pulsos de 10 segundos. La dispersión de CNF se mezcla con la dispersión que contiene sepiolita y MWCNT empleando un agitador vórtex (VibraMixR OVAN) y, a continuación, se vuelve a irradiar con ultrasonidos. En este caso la energía total es de 5 kJ con pulsos de 10 segundos, para

favorecer la integración de todos los componentes. Este proceso se genera un gel homogéneo que puede ser conformado en forma de película por la metodología de “*solvent casting*”, para lo cual se depositan 20 mL de estos geles en placas Petri de poliestireno de 50 mm de diámetro y se dejan secar bajo condiciones de temperatura y humedad relativa controladas, empleando la cámara Climacell EVO modelo 111 L. Las condiciones fijadas para el secado fueron de 30°C, 60 % HR y un tiempo de 72 horas. Las películas así obtenidas presentan un espesor de unos 0,050 mm.

2.3.3. Preparación de biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanopartículas de magnetita

Para la preparación de estos biohíbridos conteniendo nanopartículas de magnetita, fue necesario emplear métodos alternativos de dispersión de los componentes, con el fin de evitar la posible contaminación con metales a la que podría dar lugar el uso del sistema de homogeneización por ultrasonidos. Esto se debe a que pueden liberarse pequeñas cantidades de metales (Ti, Fe, Ni,..) que constituirían una contaminación relevante en este caso, ya que podrían interferir en las medidas de campo magnético de los materiales resultantes. Por ello, en primer lugar, se dispersa la CNF con una concentración del 0,5% m/v en agua agitando con un vortex y a continuación se trata con ultrasonidos, pero en este caso manteniendo el vaso de la mezcla en un baño de ultrasonidos durante un tiempo de 15 minutos. A continuación, se adicionan la sepiolita y las nanopartículas de magnetita en la cantidad necesaria para conseguir una relación CNF-sepiolita al 50% (muestra CNF-SEP 50-50) y un 5 % en masa de nanopartículas de magnetita con respecto a la masa de CNF. La mezcla se homogeniza con un vortex y a continuación se mantiene en el baño de ultrasonidos durante un tiempo de 15 minutos. El proceso de mezclado con vortex y de introducción en el baño de ultrasonidos, se repite varias veces, hasta asegurar una dispersión apropiada de los diferentes componentes. La mezcla resultante se filtró a vacío empleando en este caso un filtro Millipore HAWG con 0,45 μm de tamaño de poro, y se secó durante 48 h a 40°C. Las películas resultantes presentan un espesor de aproximadamente 0,050 mm.

2.3.4. Preparación de biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa, sepiolita y nanopartículas de ZnO

El ensamblado de nanopartículas de ZnO al sistema híbrido de nanofibras de celulosa-sepiolita, se llevó a cabo mediante la metodología que se describe a continuación. En primer lugar, se preparó una dispersión de CNF al 1% m/v de CNF en agua y se homogeneizó utilizando el equipo Ultra-Turrax a 13.500 rpm durante 5 minutos. Por otro lado, se preparó una suspensión de sepiolita al 1% m/v a la que se le adicionaron 100 mg de nanopartículas de ZnO recién preparadas, según el procedimiento descrito por Akkari y col. (Akkari y col. 2016) que se indica en la sección 2.1.7., y la mezcla resultante se homogeneizó mediante agitación magnética. La suspensión obtenida se adicionó a la de CNF previamente preparada y se homogeneizó la mezcla resultante mediante la aplicación de ultrasonidos en el equipo Vibra Cell VC 750 utilizando una energía total de 5 kJ, aplicada en pulsos de 10 segundos, con una amplitud del 50%. El gel originado en este proceso de dispersión se depositó en una placa Petri y se dejó secar en la cámara climática Climacell EVO model 111 L durante 72 horas a 30 °C and 60 % HR, obteniéndose una película de unos 0,100 mm de espesor.

2.3.5. Modificación química del biohíbrido CNF-SEP-CNT mediante Reacción de Malaprade

La modificación química de la superficie de las películas biohíbridas CNF-SEP-CNT, empleando la reacción de Malaprade, se ha abordado empleando una disolución de KIO_4 (99,8%, Merck) 0,05 M en agua bidestilada. A un matraz de 250 mL se adicionan 50 mL de esta disolución, se incorporan 26 mg de LiCl (99%, Merck) (Sirviö y col. 2016) y se mantiene bajo agitación magnética suave incorporándose una porción de la película biohíbrida CNF-SEP-CNT 50-50 (5%) de masa 49 mg. Se mantiene esta mezcla a 75 °C durante 3 horas. Transcurrido este tiempo, la porción de película modificada se lava con abundante agua bidestilada y se deja secar a la atmósfera a temperatura ambiente.

Para realizar la comprobación visual de la presencia de grupos aldehídos en la superficie de la película previamente modificada, se trata una porción de la película biohíbrida adicionando el reactivo de Tollens. Para ello se adicionan sobre la película, 2

gotas de una disolución de NaOH (98%, Sigma-Aldrich) al 5% y 1 mL de AgNO₃ (99,8%, Carlo Erba) al 5%; a continuación, se va adicionando gota a gota una disolución de amoníaco acuoso al 28% (Fluka) hasta observar la completa disolución del Ag₂O previamente formado.

2.3.6. Modificación química del biohíbrido CNF-SEP-CNT mediante reacción de silanización

En un matraz de 250 mL se adicionan 20 mL de HCl al 37% y 20 mL de isopropanol (> 99,5% Sigma). Se deja en agitación magnética suave unos minutos, tras lo cual se incorpora una porción de la película biohíbrida CNF-SEP-CNT 50-50 (4%) con una masa de 20 mg. Tras dejarla 5 minutos en agitación se adicionan 250 µL de 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (>97%, Fluka), manteniendo la mezcla reacciona a reflujo con agitación suave a 65 °C durante 15 horas. Transcurrido este tiempo, se extrae la película de material biohíbrido y se lava con una mezcla de metanol (99,8%, Aldrich)/agua al 50%, dejando secarse el producto de reacción a la atmosfera a temperatura ambiente.

2.4. Técnicas de caracterización

Se han empleado diferentes técnicas de caracterización para obtener información física y química de los materiales biohíbridos preparados. En este apartado se realiza una breve descripción de las mismas.

2.4.1. Técnicas de microscopía electrónica

a) Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido es una técnica ampliamente usada para estudiar la morfología y textura de diferentes materiales a la escala de la micra. Los materiales preparados en el presente trabajo fueron analizados por microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (conocido por sus siglas en inglés como FE-SEM) en un equipo FEI-NOVA NanoSEM 230 equipado además con un detector EDAX-Ametek que permite realizar análisis semicuantitativos de los elementos químicos constituyentes de las muestras. En algunos estudios específicos,

particularmente de muestras con MWCNT, se han empleado también otros microscopios FE-SEM, en concreto un FEI Inspect 50F y un FEI Helios 660. En el caso del último microscopio ha sido especialmente útil la obtención de imágenes mezclando la señal de electrones secundarios y retrodispersados. Debido a las características de estos equipos la preparación de las muestras ha consistido simplemente en la adhesión directa de pequeña porción de película o bien del polvo seco sobre una cinta de carbono adhesiva, sin necesidad de metalización.

b) Microscopía electrónica de transmisión

La microscopía electrónica de transmisión (conocida por sus siglas en inglés TEM) es una técnica que permite estudiar la estructura y la morfología de los materiales a escala submicrométrica con una resolución de nanómetros. Los equipos empleados han sido un microscopio TEM/STEM JEOL 2100F que opera a 200 kV y está equipado con un cañón de emisión de campo (FEG), obteniendo una resolución de un punto de 0,19 nm, que lleva además acoplado un detector de EDX (INCA x-sight de Oxford Instruments), lo que permite la posibilidad de análisis químico semicuantitativo, así como de un equipo Philips Tecnai 20 que opera también a 200 kV. Para la preparación de las muestras se toma una gota de una dispersión o gel del material objeto de estudio y se diluye en 60 mL de agua bidestilada usando un vortex y seguidamente un baño de ultrasonidos durante 10 minutos. Se deposita una gota de esta dispersión resultante en una rejilla de cobre recubierta de carbón (TEM grid 200 mesh, de Aname) o bien en una rejilla de polímero (estas fueron preparadas recubriendo una rejilla de Cu de 200 mesh, recubierta por una película de acetato de butirato de celulosa sobre el que se incorporan 30 nm de carbono amorfo) y se deja secar. En algunos estudios más específicos, llevados a cabo en el material funcionalizado con nanopartículas de ZnO, se ha empleado un microscopio FEI Titan XFEG que opera a 300 kV en modo STEM, usando un detector de campo oscuro anular de alto ángulo (HAADF). La columna de este microscopio está equipada además con un corrector de aberración esférica para la sonda de electrones CEOS que permite alcanzar una resolución de 0,8 Å. Para mediciones espectroscópicas el equipo está también equipado con un detector EDAX y Gatan Tridiem Energy Filter.

2.4.2. Microscopía confocal

El principio de funcionamiento de este tipo de microscopía óptica se basa en eliminar la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. Para ello se ilumina una pequeña zona de la muestra y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose los haces procedentes de los planos inferiores y superiores, consiguiéndose de este modo un mayor contraste y resolución de la imagen. El principio del funcionamiento de este tipo de microscopios es la existencia de dos diafragmas (*pinhole*), uno entre la fuente de luz y el objetivo, y el otro entre el objetivo y el detector. Ambos deben estar perfectamente alineados de forma que el segundo de ellos únicamente deje llegar al detector la luz procedente del plano focal. La utilización de un láser como fuente de luz permite focalizar la iluminación en una región muy pequeña de la muestra y con una gran intensidad. El método de trabajo del microscopio confocal es por epiluminación, es decir, con muestras que al incidir la luz sobre ellas reflejan toda o parte de la luz incidente (microscopía de reflexión), o emiten luz en una longitud de onda superior (microscopía de fluorescencia). El primer caso se suele utilizar con muestras opacas, principalmente en estudios de materiales, mientras que la fluorescencia se utiliza principalmente con muestras biológicas. El equipo que se ha utilizado en este trabajo ha sido un microscopio confocal multiespectral Leica TCS SP5 (Leica Microsystems), equipado con una interfaz LAS AF v 2.7.3 y un objetivo HCX PL APO CS 20.0x/0.70 NA. La adquisición de imágenes se realizó de forma secuencial con el pinhole 1 y los parámetros detallados en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4. Parámetros de adquisición.

Tamaño de campo	512 px x 512 px 775 μm x775 μm
Step size	1,76 μm
Imágenes de reflexión	filtro RT 30/70 láser de excitación de 488 nm al 30% banda de emisión: 473-508 nm
Imágenes de emisión en verde	filtro DD 488/561 láser de excitación de 488 nm al 55% banda de emisión: 500-550 nm
Imágenes de emisión en rojo	filtro DD 488/561 láser de excitación de 561 nm al 40% banda de emisión: 575-680 nm.

2.4.3. Microscopía de fuerza atómica

La microscopía de fuerza atómica o AFM de sus siglas en inglés (Atomic Force Microscopy), es una técnica de caracterización que permite obtener información de las muestras a escala atómica. El análisis de las muestras se realizó en modo dinámico y condiciones ambientales; esta forma de medición genera imágenes topográficas de la superficie. El instrumento empleado es el sistema Cervantes de Nanotec Electrónica S.L. equipado con una punta PPP-FMR (1,5 N/m como constante de fuerza) y con una constante de resonancia de 70 KHz. Para la preparación de las muestras a visualizar se han utilizado los geles obtenidos en varias preparaciones de mezclas, los cuales fueron diluidos en agua hasta alcanzar una concentración final de 0,001% m/v. Dos gotas de esta dispersión fueron dispuestas sobre la superficie de un porta de mica. La mica fue previamente exfoliada y cargada positivamente mediante la aplicación de una disolución acuosa al 0,05% m/v de 3-aminopropiltietoxisilano (conocido como APTES) a fin de procurar una superficie de referencia perfectamente plana.

2.4.4. Medidas de viscosidad

Las medidas han sido realizadas empleando un reómetro, el cual permite medir la forma en que fluye un líquido, mezcla o suspensión bajo la acción de fuerzas externas. Los reómetros se suelen emplear para fluidos que no pueden definirse con

un único valor de viscosidad y que requieren, por tanto, de más parámetros que los que puede proporcionar un viscosímetro. Las medidas han sido realizadas con un reómetro de cilindros concéntricos HAAKE™ RheoStress™ RS 50. Se ha empleado el adaptador 222-1310 para volúmenes de entre 5 y 8 cm³. La medida ha sido realizada controlando la velocidad de cizalla (“Controlled Rate” o modo “CR”), termostatizado a 23 °C, y los parámetros aplicados han sido:

- Rampa: 0,001 s⁻¹ – 300 s
- Plateau: 120 s⁻¹ – 100 s
- Bajada: 0,001 s⁻¹ – 300 s

2.4.5. Espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (conocida por sus siglas en inglés FTIR) es una técnica ampliamente usada para la identificación de grupos funcionales especialmente en compuestos orgánicos, así como en materiales híbridos órgano-inorgánicos, que puede además aportar información sobre mecanismos de interacción. Los espectros de FTIR fueron adquiridos en este trabajo con un espectrofotómetro BRUKER iFS 66Vs. Las muestras fueron preparadas de manera general como películas autosoportadas para el registro directo del espectro infrarrojo, lo cual es necesario para poder observar sin perturbaciones algunas bandas, como por ejemplo la banda asociada a las vibraciones de tensión O-H de los grupos Si-OH presentes en la sepiolita. En algunas ocasiones, las muestras han sido dispersadas en KBr anhidro y consolidadas en forma de pastilla bajo una presión de 10 toneladas. Los espectros IR fueron registrados entre 4000 y 250 cm⁻¹ con una resolución inferior a 2 cm⁻¹.

2.4.6. Difracción de rayos X

La difracción de rayos X es una técnica muy útil para obtener información estructural. Los difractogramas de las muestras han sido obtenidos en un equipo D8-ADVANCE de Bruker, equipado con un detector “Lynxeye” usando la radiación

característica para la línea $K\alpha$ del cobre ($\lambda_1 = 0,154060$ nm y $\lambda_2 = 0,154439$ nm). El voltaje y la corriente de la fuente utilizada han sido 40 kV y 30 mA, respectivamente. Los difractogramas han sido obtenidos con una velocidad del goniómetro de 0,5 s/paso entre 5 y 70 grados en valores de ángulo de 2θ . Para realizar el estudio las muestras en forma de película se han colocado directamente sobre un portamuestras plano de borosilicato.

2.4.7. Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (conocida como XPS por sus siglas en inglés "X-ray Photoelectron Spectroscopy") es una técnica analítica altamente sensible que permite obtener información espectral de los elementos químicos de la superficie de los materiales con una resolución inferior al nanómetro. Las muestras son irradiadas con Rayos X en condiciones de ultra-alto vacío, lo que genera la emisión de electrones de la capa superior de los átomos superficiales. Estos electrones emitidos son conocidos como fotoelectrones y contienen una energía específica (energía de enlace) que dependerá del número atómico y la capa electrónica a partir de los cuales son generados, pudiéndose obtener así el espectro de las energías de enlace. Analizando la posición de los picos y la altura a mitad de la señal se puede obtener información del elemento químico, de su estado de oxidación y de la coordinación de los átomos en la superficie. Los espectros XPS han sido obtenidos en una cámara de ultra-alto vacío con una presión 10^{-10} mbar. El ángulo entre el analizador hemisférico (Specs, PHOI BOS 100) y el plano de la superficie se mantuvo a 60°C, y la radiación de rayos X fue la de la línea de Mg $K\alpha$ ($h\nu = 1253,6$ eV). El análisis se realizó sobre los picos de fotoemisión de los núcleos de C 1s, y O 1s. En todos los casos, el fondo Shirley y los satélites de rayos X han sido eliminados y el análisis cuantitativo de XPS ha sido realizado con el programa CasaXPS.

2.4.8. Resonancia magnética nuclear

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear es una herramienta analítica que en el caso de materiales sólidos proporciona información estructural. Los espectros de RMN fueron obtenidos en un equipo Bruker AV-400-WB equipado con una sonda triple canal de 4 mm usando rotores de ZrO con tapón de Kel-F a temperatura ambiente. La velocidad de giro fue de 10 KHz en todos los casos.

La secuencia de pulso empleada en los espectros de ^{13}C fue de polarización cruzada (CP-MAS) ^1H - ^{13}C . Las frecuencias de trabajo han sido 400,13 MHz para ^1H , 100,61 MHz para ^{13}C . Se utilizó un ancho espectral de 35 KHz, pulso ^1H de excitación de 2,75 μs , tiempo de contacto de 3 ms y tiempo de relajación de 4 s, con desacoplamiento de ^1H tipo tppm15 a 80 KHz. El número de barridos acumulados es 1000. Se utilizó adamantano (CH_2 29,5 ppm) como referencia secundaria relativa al tetrametilsilano (TMS) utilizado como referencia primaria.

En los ensayos de CP-MAS de ^{29}Si (frecuencia de resonancia de 79,49 MHz) se empleó un pulso de excitación de ^1H de 3 μs , que corresponde a un ángulo de $\pi/2$. El ancho espectral fue de 80 kHz y el tiempo de relajación es de 5 s, empleándose un desacoplamiento de ^1H tipo tppm 15 a 80 KHz. Los espectros se acumularon durante una noche. En el ensayo de irradiación directa se utilizó un pulso simple de $\pi/2$ a 25 KHz con un tiempo de relajación de 40 s y un ancho espectral de 40 kHz, también se acumularon durante toda la noche. En ambos casos se utilizó caolinita (-91,2 ppm) como referencia secundaria relativo al TMS como referencia primaria.

2.4.9. Superficie específica y porosidad

El estudio de la superficie específica y la distribución de tamaño de poros de las muestras se ha realizado en un equipo Micromeritics modelo ASAP 2010, y como gas de medida se ha utilizado nitrógeno. Las medidas se realizaron a la temperatura del nitrógeno líquido. Antes de ser analizadas, las muestras fueron sometidas a un tratamiento previo a vacío, para limpiar su superficie. Aunque este proceso de desgasificación suele realizarse a unos 150 °C, en este trabajo se ha llevado a cabo a

100 °C dada la sensibilidad térmica de las muestras que contenían una mayor proporción de celulosa. De la isoterma de adsorción se deduce el valor de la superficie específica mediante el método BET (Brunauer y col. 1938), mientras que el área superficial (S_{ext}) y el volumen de microporos (V_{mic}) se obtienen aplicando el método t-plot (Lippens y de Boer, 1965). El volumen de micro- y meso-poros se obtiene a partir del gas adsorbido a presiones parciales $P/P_0 = 0,96$, en la parte de desorción. La distribución de tamaño de mesoporos se ha analizado a partir de los datos de la isoterma en la parte de adsorción, aplicando el método Barret-Joyner-Hallenda (BJH) (Barrett y col. 1951) que utiliza la ecuación de Kelvin (Gregg y Sing 1982) en la ecuación Harkins-Jura para obtener el espesor estadístico en la capa adsorbida de los materiales estudiados.

2.4.10. Isotermas de adsorción de agua

Las isotermas de adsorción de agua permiten obtener información sobre la capacidad de un material para adsorber agua en unas condiciones de humedad y temperatura determinadas. La isoterma expresa la variación de masa de la muestra respecto al peso de muestra seca en función de la humedad relativa. Mediante el ajuste de los datos experimentales a modelos matemáticos se puede obtener información sobre como interaccionan las moléculas de agua con la muestra a una determinada humedad y temperatura. Se obtiene además información sobre la estabilidad y comportamiento del material en atmósferas de distinta humedad relativa, cambios reversibles o irreversibles en procesos de secado y humectación (mediante ciclos consecutivos de adsorción/desorción), obtención valores de la capacidad de adsorción de agua en distintas condiciones, cinéticas, identificación de posibles cambios de transición de fase, presencia de polimorfos, contenido amorfo, estudio de formación de hidratos y solvatos, datos sobre el proceso de secado y valores de calor de adsorción, etc. En este trabajo, las isotermas han sido obtenidas utilizando un equipo Aquadyne DVS de Quantachrome Instruments. Se dispusieron aproximadamente 10 mg de muestra, en forma de película en pequeñas porciones, en la balanza que se encuentra situada en el interior de una cámara termostatzada a 26 °C y se varió la humedad relativa en la misma desde 0 al 95 %. Las diferentes

condiciones de humedad en la atmósfera son reguladas automáticamente por el equipo haciendo pasar una corriente de nitrógeno seco en agua. De forma automatizada y siguiendo una secuencia programada, se determina primero el peso seco de la muestra calentando previamente a 80 °C en una humedad relativa del 0% y corriente de nitrógeno seco hasta que el peso de la muestra permanece constante en el tiempo. A continuación, el equipo varía automáticamente la HR en intervalos de 10%, o de 5% en el tramo de mayor HR entre 90 y 95%, determinando el cambio de masa en cada una de las etapas a la temperatura de trabajo, en este caso a 26 °C.

2.4.11. Ángulo de contacto

Las medidas de ángulo de contacto permiten obtener información de las propiedades interfaciales tales como la hidrofobicidad y la posibilidad de alteración de la superficie debido a modificaciones de la misma. Las medidas del ángulo de contacto han sido realizadas en modo estático analizando la forma de una gota de agua con el instrumento EasyDrop de Krüss. El análisis fue realizado 10 segundos después de depositar una gota de agua desionizada (2 µL); la línea de base fue determinada automáticamente y el ajuste fue realizado empleando los métodos de *Young-Laplace* (Yuan y Lee 2013) y "*Circle Fitting*" (Zhang y col. 2008).

2.4.12. Análisis térmico

El análisis térmico es una técnica analítica que estudia el comportamiento térmico de un material registrando las variaciones de masas que se producen durante un proceso de calentamiento bajo atmosfera controlada (N₂, O₂, aire,...). Los termogramas han sido obtenidos empleando el equipo Q600 de TA Instruments, que permite obtener simultáneamente las curvas de análisis térmico diferencial (ATD) y termogravimétrico (TG). Los análisis fueron llevados a cabo bajo atmosfera de N₂ o de O₂ con un caudal de 10 °C/min en un intervalo de temperaturas que va desde la temperatura ambiente hasta los 900 °C.

2.4.13. Propiedades mecánicas

La determinación de las propiedades mecánicas de un material permite conocer cómo responde este ante una fuerza aplicada sobre él en unas determinadas condiciones. En este caso las propiedades que se han estudiado de las diferentes películas han sido el módulo de Young y el porcentaje de elongación. Las medidas han sido realizadas empleando la máquina universal de ensayos Instron modelo 3345 (Instron Engineering Corporation Canton). Las muestras fueron recortadas en forma rectangular (30 mm x 15 mm) y colocadas entre las mordazas, las cuales se encontraban dispuestas con una separación inicial de 20 mm, la velocidad del bastidor fue 5 mm/min⁻¹. Se realizaron al menos tres medidas por cada ensayo.

2.4.14. Propiedades eléctricas

La conductividad eléctrica ha sido determinada por el método de las cuatro puntas (Smits 1958; van der Pauw 1958), usando un potencióstato/galvanostato Solartron 1480 MultiStat para aplicar la corriente. El barrido de corriente fue realizado entre 1x10⁻⁷ y 1x10⁻⁴ A a una velocidad de 0,001 mA/s. A partir de este barrido de intensidad (I) se obtiene el potencial (E). De la pendiente que se obtiene de la representación de potencial (E) frente a la intensidad (I), se obtiene el valor de resistencia de la muestra (R). La conductividad eléctrica se obtiene aplicando la siguiente ecuación 1:

$$\sigma = \ln \frac{2}{R \cdot \pi \cdot e}$$

Dónde σ es la conductividad de la muestra, e , es el espesor de la muestra y R la resistencia. Esta ecuación puede ser aplicada siempre y cuando se cumpla la condición de que el espesor sea mucho menor que la distancia entre las puntas, que para el sistema empleado es de 1,69 mm.

2.4.15. Propiedades magnéticas

La determinación de las propiedades magnéticas se ha realizado en un Dispositivo Superconductor de Interferencia Cuántica, conocido como SQUID por sus siglas en inglés (Superconducting Quantum Interference Device), el cual es un tipo de magnetómetro muy sensible usado para medir campos magnéticos débiles. El instrumento empleado pertenece a Quantum Design y está equipado con una bobina de 5 Tesla (50 kOe). Se ha estudiado la dependencia de la magnetización con la temperatura a campo cero (ZFC) y en presencia de un campo aplicado (FC) después de que las muestras fueran desmagnetizadas. Los ciclos de histéresis fueron obtenidos a temperatura ambiente 26,85 °C y a -269,15 °C, mientras que la dependencia de la magnetización con la temperatura fue medida desde 4 hasta 400 K aplicando un campo magnético externo de 50 Oe.

2.4.16. Medidas de potencial Z

Las medidas de potencial Z dan idea de la magnitud de la carga superficial de las partículas permitiendo obtener información sobre la posible repulsión o atracción entre partículas de distintos materiales o con otros componentes. En este estudio esta medida puede además proporcionar información sobre los mecanismos de dispersión predominantes entre partículas. Las medidas de potencial Z fueron realizadas empleando el instrumento NanoBrook 90Plus PALS de Brookhaven Instruments, la dispersión dinámica de luz fue medida a 15°. El instrumento está equipado con un láser de semiconductor de 40 mW y 640 nm con temperatura controlada. En el proceso de medida se han empleado el electrodo BI-ZEL y las cubetas desechables de poliestireno indicados en el apartado 2.2.1.

2.4.17. Espectroscopía UV-Visible

La espectroscopía Ultravioleta-Visible es una técnica muy útil que suele ser empleada para la determinación cuantitativa y/o cualitativa de diferentes tipos de analitos. El espectrofotómetro empleado aquí ha sido un equipo Shimadzu UV-1201.

En este estudio ha sido utilizado para la determinación de las frecuencias de absorción de luz en las películas de biohíbridos preparadas y así establecer las propiedades de barrera frente a la radiación de los mismos. Para ello, se han colocado fragmentos de las mismas en un soporte para películas que reemplaza al soporte de cubetas empleado habitualmente y se ha realizado la medida de la transmitancia de las muestras en el intervalo de longitud de onda comprendido entre 200 y 800 nm.

2.5. Estudio de las posibles aplicaciones de los materiales biohíbridos desarrollados

2.5.1. Medidas de variación de conductividad en función de la humedad relativa

En este caso y dado que no se dispone en el grupo de investigación de un instrumento específico diseñado para este tipo de medida, se realizó una modificación en el equipo empleado para la obtención de las isothermas de adsorción de agua descrito en el apartado 2.4.9 (el instrumento Aquadyne DVS de Quantachrome). Esta modificación consistió en incorporar cables en el lugar donde habitualmente se encuentra dispuesta una de las balanzas. Estos cables se conectaron a un multímetro Fluke 45 Dual. De este modo se consigue tener la muestra dentro de una cámara en la cual se puede regular la temperatura y la humedad relativa (Figura 2.5.1). Además, ha sido necesario diseñar un soporte para las muestras, ya que para un estudio comparativo entre los distintos materiales preparados es importante asegurar que la medida de resistencia corresponde a la misma distancia entre electrodos. El dispositivo ha consistido en una plancha de metacrilato en forma de cuadrado que ha sido recortado con las dimensiones adecuadas para asegurar que pueda ser incorporado dentro de la cámara. A esta base se le han acoplado unas pinzas metálicas a las que a su vez se han incorporado unas pequeñas tiras de teflón para asegurar que las películas queden inmovilizadas entre ambas. A estas dos tiras de teflón se les han unido dos contactos eléctricos realizados con pintura de plata (adhesivo conductor RS Pro RS 186-3593), que permiten asegurar el contacto eléctrico entre las pinzas y la muestra, y que van a estar situados entre sí a una distancia de 1,5 cm. Los cables que posteriormente se conectaron al multímetro van a su vez ensamblados a las pinzas metálicas. La forma de proceder para realizar estas medidas ha sido programar una

secuencia de humedades relativas, desde 0% hasta el 95%, dentro de la cámara, las cuales se mantienen constantes durante la realización de la medida. La primera etapa corresponde a la eliminación del agua que pueda estar presente en la muestra, para ello se define una humedad relativa del 0% y una temperatura de 80 °C. A continuación, se va aumentando la humedad relativa, esperando unos 45 minutos antes de realizar la medida de la resistencia eléctrica, para asegurar que las condiciones definidas han sido alcanzadas. Previamente fue necesario estudiar el tiempo que el equipo tardaba en alcanzarlas, pudiéndose observar mediante el estudio de las cinéticas de adsorción de agua que a los 45 minutos se había conseguido estabilizar la humedad relativa. Es necesario señalar, que el equipo no está diseñado para este tipo de medidas, y que la entrada de los cables provoca que el sistema no quede completamente aislado, por lo que no se consiguen estabilizar las condiciones programadas con la misma precisión que en los experimentos realizados para la obtención de las isotermas de adsorción de agua, sí bien, si se pueden conseguir unos valores estables que permiten relacionar de forma inequívoca el valor de humedad relativa con el valor de la resistencia eléctrica medida.

Las muestras analizadas fueron sometidas a una etapa previa de acondicionamiento, en la que la porción de película es sometida al programa establecido e indicado en el apartado mencionado anteriormente, ya que es a partir de esta primera etapa cuando se puede observar la relación lineal entre la variación de la HR y la resistencia. En todas ellas, se realizaron, al menos tres ciclos, es decir, tres subidas y tres bajas de HR monitorizando las variaciones de resistencia. En todos los casos la temperatura seleccionada para la realización de estas medidas ha sido de 26 °C.



Figura 2.1. Esquema de la modificación realizada en el instrumento Aquadyne DVS de Quantachrome para la medición de la resistencia eléctrica de diferentes películas a humedad relativa controlada.

2.5.2. Actividad fotocatalítica

Este estudio ha sido realizado en colaboración con la Dra. Marwa Akkari, de nuestro grupo de trabajo (Grupo de Materiales Nanoestructurados Porosos, Híbridos y Biohíbridos, ICMM-CSIC). Para la determinación de la actividad fotocatalítica del material híbrido CNF-SEP-ZnO se ha evaluado la capacidad del mismo para producir la decoloración del azul de metileno (AM), colorante seleccionado como modelo de contaminante orgánico en aguas. El estudio se ha llevado a cabo en un sistema de reacción desarrollado en el laboratorio, el cual está compuesto por una lámpara UV de 300 W con una fuerte emisión a 354 nm como fuente de luz, la cual se sitúa a 10 cm por encima del reactor de trabajo. Este es un reactor de vidrio que está rodeado por una camisa a través de la cual se hace recircular agua como refrigerante desde un baño termostatzado, para mantener así una temperatura constante de $16 \pm 0,5$ °C durante la reacción. Para la reacción se han utilizado 20 mg de catalizador (ZnO NPs o CNF-SEP-ZnO) el cual se dispersa en 100 mL de una disolución acuosa $3 \cdot 10^{-5}$ mol/mL de AM, protegiéndolo de la luz y bajo agitación magnética suave. Antes de llevar a cabo la fotodegradación del AM se esperan 30 minutos para dar tiempo a alcanzar el equilibrio

de adsorción/desorción del colorante, descartando así los efectos de disminución de la cantidad de colorante en solución asociados a procesos de adsorción en el catalizador. A continuación, se enciende la lámpara UV para que comience el proceso fotocatalítico y, a diferentes intervalos de tiempo, se van extrayendo 5 mL de disolución con una jeringa. Esta porción de muestra es filtrada a través de un filtro Durapore® de Millipore de 0,45 μm de tamaño de poro y el líquido resultante es analizado por espectrofotometría UV-Visible determinándose la adsorción a 663 nm la cual está asociada a la presencia del colorante. A partir de este valor de absorción y utilizando la ley de Lambert-Beer establecida a partir de la absorbancia de varias disoluciones de AM de concentración conocida es posible establecer la concentración de colorante en la disolución objeto de estudio. Con los valores de concentración de AM determinados es posible establecer la eficiencia de la degradación utilizando la siguiente ecuación 2:

$$\text{Degradación (\%)} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100$$

Dónde C_0 es la concentración inicial antes del proceso de adsorción y C es la concentración residual de azul de metileno a los diferentes intervalos de irradiación UV estudiados.

3. BIOHÍBRIDOS BASADOS EN NANOFIBRAS DE CELULOSA Y SEPIOLITA

En este capítulo, se plantea como objetivo fundamental el desarrollo de una estrategia general para la preparación de nuevas nanoarquitecturas basadas en el ensamblaje de nanofibras de celulosa y de otro sólido de aspecto fibroso pero de naturaleza inorgánica, como es la sepiolita. La idea subyacente de combinar estos dos tipos de fibras, es crear materiales donde ambas fibras se encuentren integradas de la manera más homogénea posible y aprovechar las propiedades individuales que presentan cada una de ellas, así como la potencial capacidad de funcionalización inherente a cada uno de los componentes fibrosos.

3.1. Síntesis y caracterización del biohíbrido CNF-SEP

La preparación del material biohíbrido basado en nanofibras de celulosa (CNF) y sepiolita (SEP) se ha realizado en medio acuoso donde ambos tipos de nanofibras forman dispersiones altamente estables. Para obtener el precursor del biohíbrido se requiere de la adecuada dispersión conjunta de ambos tipos de fibras en agua, siendo necesario superar la gran tendencia que presentan ambos tipos de fibras a auto-agregarse. Por ello ha sido necesario emplear un potente sistema de dispersión/homogeneización de alta cizalla conocido como Ultra-Turrax™ (T25). Debido a la alta velocidad que puede alcanzar el rotor de este equipo, del orden de entre 3000-25000 rpm, las partículas a dispersar son sometidas a elevadas fuerzas de cizalla generando mezclas homogéneas de ambas fibras en suspensión. Seguidamente se han aplicado en una segunda etapa tratamientos adicionales de irradiación con ultrasonidos a las suspensiones obtenidas después de ese primer tratamiento de homogeneización de alta cizalla.

En la Figura 3.1 se muestra un esquema del proceso global seguido para la preparación de los materiales biohíbridos objeto de esta Tesis Doctoral. Puede observarse como el material híbrido que solo ha sido sometido al proceso de homogeneización da lugar, tras la correspondiente etapa de secado, a una película que no es ni uniforme ni transparente (Figura 3.1, imagen de la película obtenida a partir del Gel 1). Esto es atribuido a la inadecuada integración de ambos tipos de fibras. Sin embargo, si a esta mezcla resultante del proceso de homogeneización bajo alta cizalla,

se irradia con ultrasonidos, se consigue un gel a partir del cual es posible preparar películas homogéneas y transparentes como las que se muestran en la Figura 3.1 (película obtenida a partir del Gel 2). Este resultado confirma que es necesaria esta segunda etapa de tratamiento sonomecánico para conseguir integrar y homogenizar totalmente ambos tipos de fibras en el medio acuoso, obteniéndose así un gel que puede ser posteriormente procesado a fin de conseguir materiales de gran homogeneidad. Estas condiciones específicas que se precisan aplicar para lograr materiales híbridos CNF-SEP de naturaleza homogénea, han sido oportunamente patentado por el grupo de investigación involucrado (PCT/ES2015/070506). La explicación puede residir en parte en el comportamiento de las fibras de CNF, habiéndose descrito en la bibliografía que la aplicación de fuerzas de cizalla a geles de CNF provoca un enredamiento de las fibras de nanocelulosa mostrando una disposición en forma de pequeñas agrupaciones.

Son muchos los artículos en los que se describe como la aplicación de energía de ultrasonidos a geles de CNF provoca que se debiliten los enlaces de hidrógeno presentes entre fibras de celulosa e incluso las fragmente, originando nanofibras de menor tamaño (Pääkkö y col. 2007). Esta puede ser una de las razones por las que, tras la aplicación de esta energía, la película obtenida además de homogénea sea muy transparente al lograrse un alto grado de desfibración seguido del ensamblado homogéneo entre nanofibras.

Con ayuda de un reómetro, se ha estudiado el comportamiento reológico de los geles resultantes de los dos tratamientos consecutivos antes mencionados y por lo tanto constituidos por el ensamblaje de CNF y sepiolita. Se observa que dichos geles presentan un comportamiento pseudoplástico, conocido también como fluidificación por cizalla, el cual se caracteriza porque se observa una disminución de la viscosidad a medida que aumenta la fuerza de cizalla (Figura 3.2).

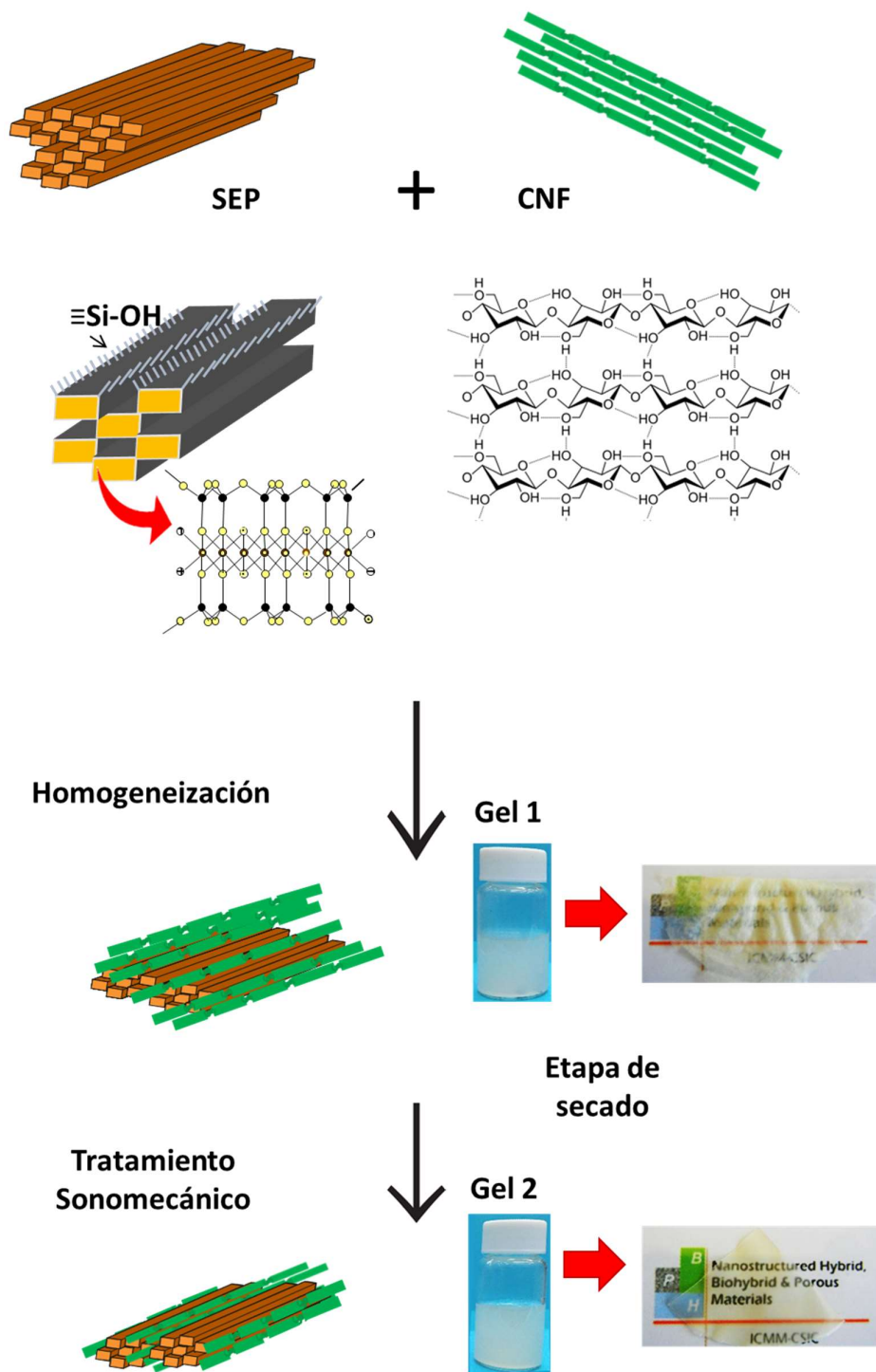


Figura 3.1. Esquema del proceso de preparación del material biohíbrido CNF-SEP.

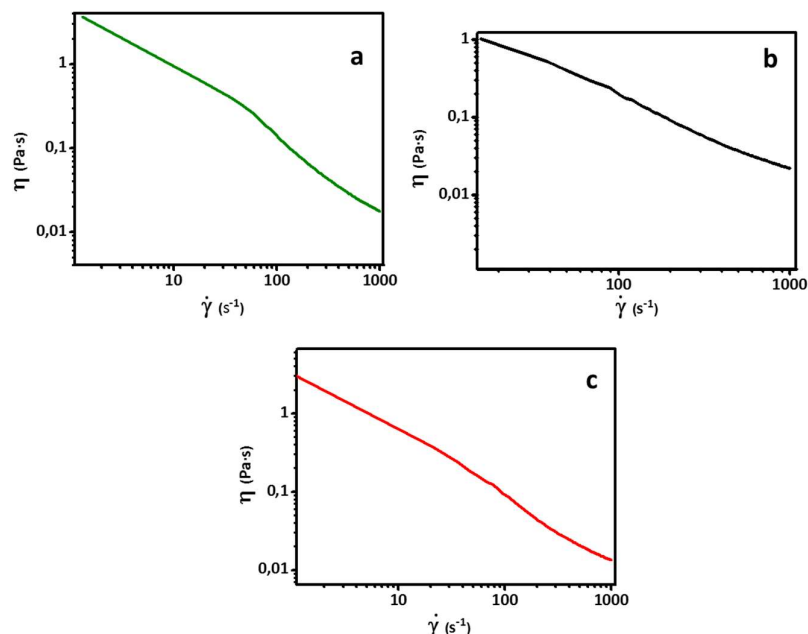


Figura 3.2. Evolución de la viscosidad (η) frente a la velocidad de cizalla de a) un gel de CNF al 1%, b) una dispersión de sepiolita al 1%, c) un gel híbrido que combina ambos componentes al 50% (CNF-SEP 50-50).

Este comportamiento pseudoplástico es característico de geles constituidos por partículas no esféricas, ya que cuando se encuentran en reposo existe interacción entre ellas, y al aplicar la fuerza de cizalla, las partículas tienden a orientarse en la dirección del flujo, disminuyendo así la viscosidad del sistema. Yingxin y col. (Liu y col. 2017) han estudiado este tipo de geles que combinan CNF-SEP y proponen que en ellos se produce una orientación de las fibras de la sepiolita asistida por la red de CNF. Basados en esta interpretación y los resultados obtenidos en el presente trabajo, puede proponerse que cuando se preparan materiales CNF-SEP a partir de geles híbridos según el proceso aquí descrito, tras el tratamiento bajo cizalla se genera cierta orientación y distribución de las partículas de sepiolita dentro del gel de CNF y después del tratamiento con ultrasonidos, se podrían reducir las pequeñas agrupaciones de fibras de CNF junto a una posible reducción del tamaño de estas últimas nanofibras. Se observa que los geles obtenidos mediante esta metodología son geles muy viscosos y de gran estabilidad, sin llegar en ningún caso a observarse procesos de sinéresis

(separación espontánea en reposo del gel en dos fases), transcurrido incluso más de un año desde su preparación (Figura 3.3).

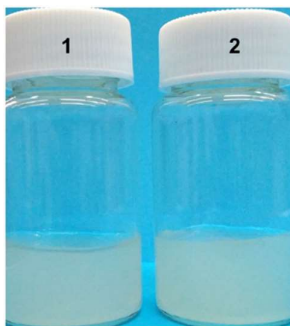


Figura 3.3. Aspecto de un gel híbrido CNF-SEP 50-50, recién preparado (1) y después de un año desde su preparación (2).

Los geles pueden ser conformados como películas mediante dos métodos: 1) *solvent casting* o eliminación del disolvente por evaporación, y 2) mediante filtración a vacío. La metodología de eliminación del disolvente por evaporación es un método frecuentemente usado para preparar películas con diferentes espesores. En este caso, el gel se deposita en placas Petri y se deja secar dentro de una cámara climática, en la que se pueden establecer unos valores fijos de humedad relativa y temperatura. Tras el secado, se obtienen películas autosoportadas que se separan fácilmente de la placa Petri dando lugar a películas autosoportadas. En la Tabla 3.1. se recogen los espesores, diámetros y gramajes de diferentes películas híbridas CNF-SEP preparadas de esta manera.

Tabla 3.1. Espesores y gramajes de las películas bionanocomposites preparadas.

Sistema CNF-SEP	Espesor medio (mm)	Gramaje* (g/m ²)
CNF100	0,051 ± 0,003	99,27
CNF-SEP 99-1	0,041 ± 0,004	98,70
CNF-SEP 98-2	0,052 ± 0,005	95,01
CNF-SEP 95-5	0,058 ± 0,001	83,53
CNF-SEP 90-10	0,052 ± 0,006	99,44
CNF-SEP 80-20	0,055 ± 0,003	102,00
CNF-SEP 60-40	0,046 ± 0,012	85,20
CNF-SEP 50-50	0,044 ± 0,002	94,93

* Definición de gramaje: masa en gramos contenida en un metro cuadrado de material.

Empleando la filtración a vacío se obtienen películas que presentan espesores y gramajes similares a las obtenidas por *solvent casting* presentando superficies más planas y con una menor presencia de arrugas. El proceso de secado es una etapa importante en la preparación de estos materiales biohíbridos porque pueden presentar cierta tendencia a encogerse y arrugarse en el transcurso de dicho proceso. Este comportamiento se produce como consecuencia de la contracción de la superficie de los materiales debido a la pérdida de agua capilar que produce deflexión de la superficie. En este estudio se analizaron diferentes procesos de secado y diferentes condiciones de temperatura humedad relativa controlada en la cámara, obteniéndose los mejores resultados cuando el secado es lento, bajo condiciones de temperatura y humedad relativa controlada, empleando para ello la cámara climática y las condiciones descritas previamente en el apartado 2.3.1.

3.1.2. Microscopía FE-SEM

La morfología de los materiales híbridos CNF-SEP conformados como películas ha sido estudiada mediante FE-SEM. En la Figura 3.4 se muestra el aspecto de los componentes por separado y de una película del material híbrido que contiene un 50% de cada uno de ellos. Así, en el caso de la sepiolita (Figura 3.4 a), se distinguen las partículas de aspecto fibroso características de este tipo de arcilla, apareciendo bastante desfibradas en relación al mineral de partida, debido a que se trata de un producto comercial de grado reológico y que dicho silicato ha sido sometido a un tratamiento específico de molienda en húmedo. La superficie de una película de CNF puede verse en la Figura 3.4 b donde se aprecia una buena integración entre las fibras de CNF, distinguiéndose algunas de mayor longitud que otras, siendo las más largas también de mayor longitud que las de sepiolita. Las imágenes mostradas en la Figura 3.4 c y d corresponden a la superficie de una película del híbrido CNF-SEP 50-50, siendo posible distinguir entre ambos tipos de fibras, tal y como se indica con las flechas en una de las imágenes. En estas imágenes se aprecia claramente como el material resultante muestra un elevado grado de integración entre ambos tipos de fibras.

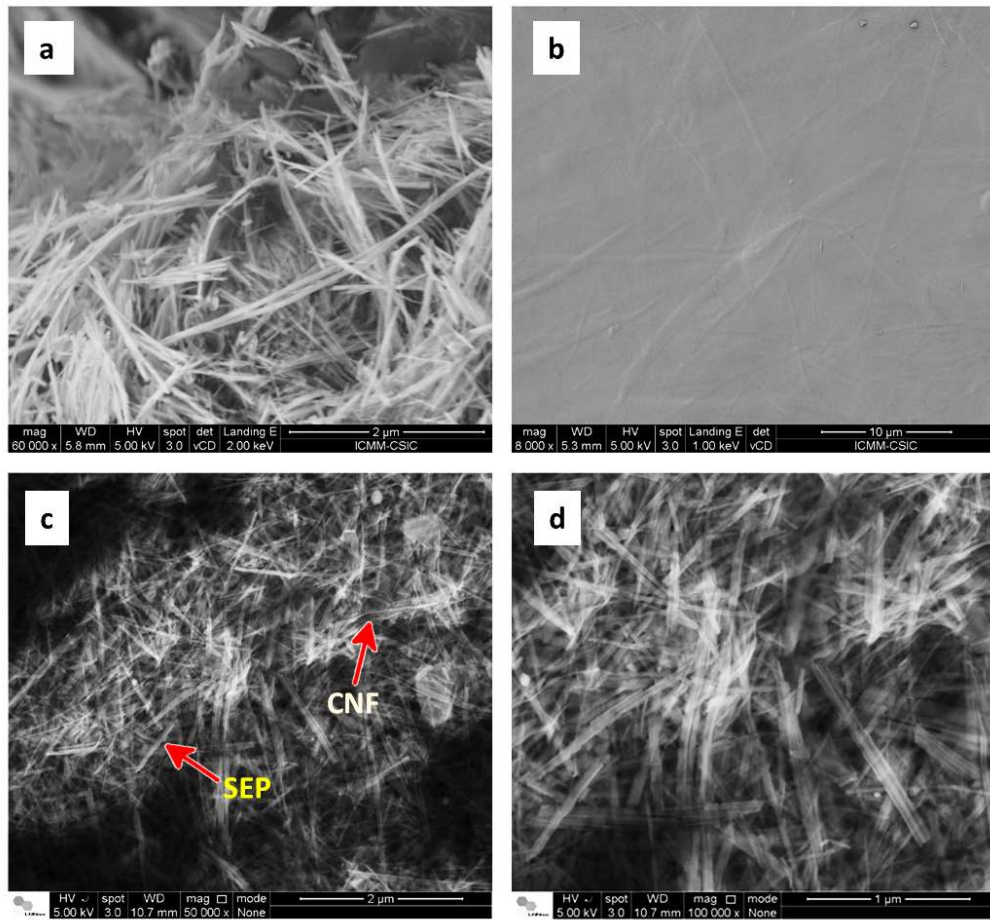


Figure 3.4. Imágenes FE-SEM de a) sepiolita, b) una película de CNF, c) y d) una película CNF-SEP 50-50 a x50000 y x100000 aumentos, respectivamente.

3.1.3 Microscopía AFM

La morfología de ambos componentes del híbrido CNF-SEP ha sido también estudiada mediante AFM. Para hacer estas observaciones hubo que diluir el gel previamente a ser depositado sobre una superficie de mica previamente tratada, tal y como se explica en la sección 2.4.3. En las Figuras 3.5 a y b se muestran las imágenes de cada uno de los materiales fibrosos por separado, los cuales fueron depositados a partir de geles de sepiolita y CNF sin ningún tipo de tratamiento previo (es decir, sin haber sido sometidos a tratamientos con el agitador de alta cizalla y/o con la punta de ultrasonidos).

En la Figura 3.5 a se comprueba como las fibras de sepiolita de partida se encuentran bastante desagregadas, aunque algunas de ellas tienden a alinearse e interaccionar entre sí a lo largo del eje de la fibra. En la parte inferior de la imagen se visualiza el camino recorrido con la punta para realizar un estudio de las alturas de las diferentes fibras presentes sobre la superficie de mica mostrada, observándose una altura media comprendida entre 38 y 50 nm. El examen de las imágenes con el programa ImageJ permite determinar la longitud de las fibras visualizadas, obteniéndose valores que generalmente se encuentran en torno a 1 μm , con algunas aún por debajo de este valor (para las fibras en la imagen de la Figura 3.5.a: fibra 1: 1,128 μm ; fibra 2: 0,229 μm ; fibra 3: 0,786 μm ; fibra 4: 1,226 μm ; fibra 5: 1,354 μm ; y fibra 6: 0,580 μm).

En la Figura 3.5 b se aprecia como las fibras de CNF son más finas, más largas y que no son rectas, sino que presentan ciertos cambios de dirección conocidos con el término en inglés *kinks*, que podría traducirse como “pliegues” o “torceduras”, no observables en las fibras de sepiolita. Estos *kinks* son característicos de este tipo de fibras y, aunque inicialmente se podrían asociar a la presencia de las regiones cristalina y amorfa dentro de la fibra, Usov y col. demostraron que son consecuencia de los tratamientos mecánicos a los que se someten los materiales de partida para la obtención de las nanofibras (Usov y col. 2015). La altura media de las fibras de CNF es de 4,5 nm, es decir, menor que en el caso de las de sepiolita. Al igual que sucedía con las fibras de este último material, las fibras de CNF pueden presentar una longitud variable, siendo con frecuencia más largas que las de sepiolita (longitud de las fibras que aparecen en la imagen de la Figura 3.5.b: fibra 1: 1,939 μm ; fibra 2: 0,480 μm ; fibra 3: 0,743; fibra 4: 2,582 μm ; y fibra 5: 1,1113 μm).

En la Figura 3.5 c se muestra una imagen de AFM de las fibras de CNF después de haber sido sometidas a un tratamiento de mezcla a alta cizalla e irradiación de ultrasonidos. Se puede apreciar claramente como la longitud de las fibras se ha reducido si se compara con la CNF de partida (Figura 3.5 b) al igual que lo hace la altura de las mismas, que ahora es de 2,5 nm. Estas observaciones confirman lo que se ha comentado inicialmente acerca del efecto que ese tipo de tratamiento produce sobre las fibras, además de su desagregación como muestra la imagen, con la rotura de las

mismas (longitud de las fibras que aparecen en la imagen de la Figura 3.5.c: fibra 1: 1,781 μm ; fibra 2: 1,399 μm ; fibra 3: 0,793; fibra 4: 0,595 μm ; y fibra 5: 1,558 μm).

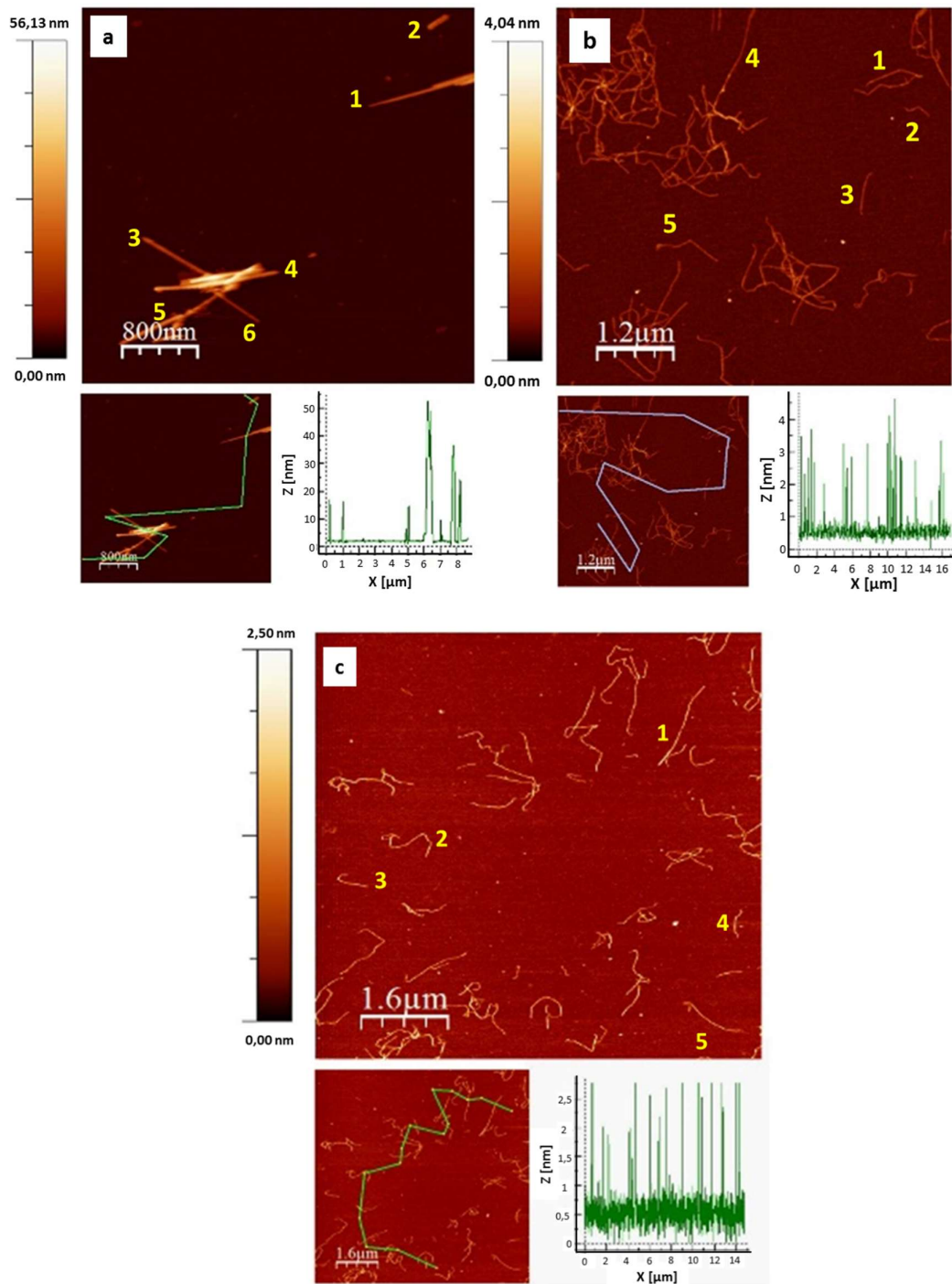


Figura 3.5. Imágenes de AFM (altura) de las fibras de a) sepiolita y de CNF b) sin ningún tipo de tratamiento previo, y c) tras ser sometida a tratamiento de mezcla con alta cizalla e irradiación con ultrasonidos.

En la Figura 3.6 se muestra una imagen de AFM de las fibras presentes en el gel híbrido CNF-SEP 50-50, observándose que ecualizando dicha imagen se consigue resaltar un tipo u otro de fibra. En la imagen pueden diferenciarse perfectamente ambos tipos de fibras ya que, por un lado, las fibras de sepiolita son más rígidas y tienen mayor altura (valores comprendidos entre 15-20 nm), y por otro, las fibras de CNF son más delgadas y finas (alturas con valores de unos 2 nm). Tal y como se ha comentado anteriormente, los tratamientos realizados para la preparación de los geles híbridos pueden venir acompañados de la rotura de ambos tipos de fibras. En el caso de las fibras de sepiolita claramente se tienen fibras de tamaño más corto que las determinadas en los geles sin tratar, tanto para el largo como para el ancho (longitud y anchura de las fibras de sepiolita que aparecen en la imagen de la Figura 3.6.a: fibra 1S: 0,295 x 0,072 μm ; fibra 2S: 0,390 x 0,089 μm ; fibra 3S: 0,868 x 0,080 μm ; y fibra 4S: 0,438 x 0,076 μm). En el caso de las fibras de CNF se observan incluso valores de longitud menores que las sometidas a esos tratamientos sin incorporar sepiolita (longitud de las fibras de CNF que aparecen en la imagen de la Figura 3.6.b: fibra1C: 0,893 μm ; fibra 2C: 0,984 μm ; fibra 3C: 0,444 μm ; fibra 4C: 1,730 μm).

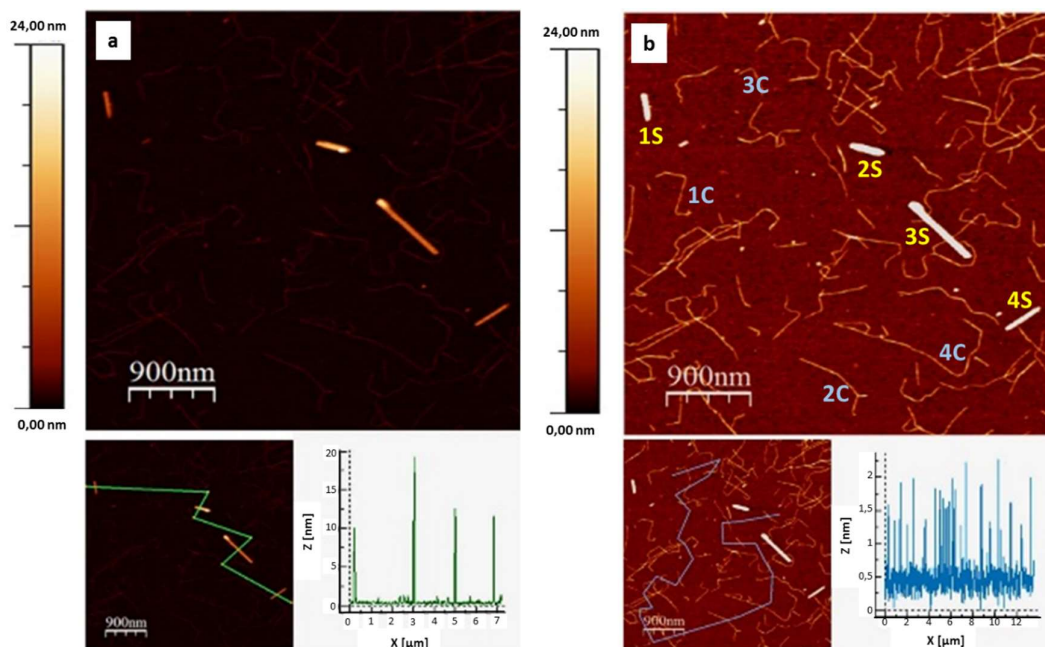


Figura 3.6. Imágenes de AFM (alturas) de las fibras presentes en el gel del híbrido CNF-SEP 50-50 obtenidas en la misma zona pero con diferente ecualización, para resaltar un tipo u otro de fibra, la sepiolita en a, y las CNF en b. En la parte inferior aparece junto a cada imagen el perfil topográfico recorrido por la punta en la zona seleccionada (trazo en las correspondientes imágenes).

Además del estudio de los geles híbridos, se ha visualizado una película muy fina del material híbrido preparada en este caso sobre mica, con objeto de tener información acerca de cómo quedan integradas ambos tipos de fibras una vez que el material se procesa y se seca el gel, es decir, cuando se encuentra conformado como película. Sin embargo, este estudio no ha aportado ninguna información relevante debido a que han aparecido muchos problemas para visualizar las muestras puesto que se cargaban electrostáticamente y, en algunas de las preparaciones, la punta de AFM podía incluso quedar adherida a la propia muestra. En las imágenes obtenidas (p.ej., Figura 3.7) se aprecian zonas con grandes diferencias de alturas, lo que ha impedido obtener imágenes con alta resolución para poder tener información relevante de este tipo de materiales híbridos una vez conformados como películas.

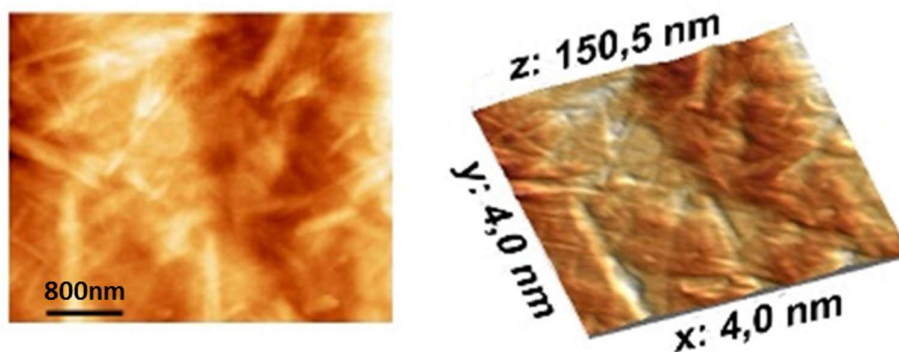


Figura 3.7. Imágenes de AFM características de una película de CNF-SEP 50-50 preparada sobre mica, a la derecha en 3D a la izquierda en 2D.

3.1.4 Microscopía TEM

La morfología de las fibras constituyentes del biohíbrido ha sido estudiada mediante TEM. Para visualizar las muestras ha sido necesario diluir y desagregar al máximo las fibras en los geles de partida, tras lo cual se han depositado en la rejilla. Si bien este tipo de estudio no es totalmente representativo del material final, permite hacerse una idea de cómo se organizan las diferentes fibras en la suspensión. En la Figura 3.8 se muestran algunas de las imágenes obtenidas y las flechas señalan algunos ejemplos de la localización de ambos tipos de fibras. En las imágenes se comprueba que las más rígidas, generalmente asociadas formando haces, pertenecen a la sepiolita (SEP), mientras que las más finas, largas y con una cierta flexibilidad, pertenecen a la CNF, disponiéndose todas ellas formando una red que cubre completamente la rejilla.

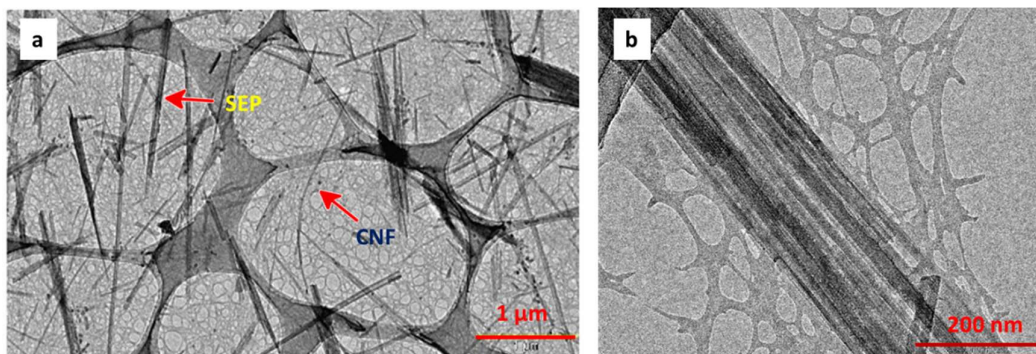


Figura 3.8. Imágenes TEM del bionanocomposite CNF-SEP 50-50 a) Imagen general b) detalle de fibra de sepiolita.

3.1.5. Microscopía confocal

El material biohíbrido procesado como película fue también observado mediante microscopia confocal con el objetivo de comprobar la dispersión y posible organización de las fibras de sepiolita y de CNF. Para ello, se aprovechó el hecho de que la sepiolita posee una fluorescencia natural o intrínseca, conocida como fluorescencia primaria, que, aunque no está claro su origen, podría ser atribuida a la presencia de tierras raras a nivel de trazas en su composición (Ruiz-Hitzky 2017). Esto permite que la propia sepiolita actúe como fluoróforo, mientras que las fibras de CNF carecen de ella y por contraste en las imágenes podrán ser distinguidos ambos tipos de fibra en el material. De hecho, esta característica especial de la sepiolita ha sido también empleada en la visualización de un proceso de transfección génica en células de mamíferos, ya que la distinta emisión permite diferenciar los núcleos celulares y seguir el recorrido del DNA que se encontraba soportado sobre sepiolita (Castro-Smirnov y col. 2016).

Antes de analizar los materiales conformados como películas, se ha analizado la fluorescencia de la sepiolita, para lo cual se ha hecho incidir el láser con diferentes longitudes de onda de excitación ($\lambda = 488 \text{ nm}$ y $\lambda = 561 \text{ nm}$) sobre una porción de una película preparada sólo con sepiolita, y se han obtenido los perfiles de emisión del sustrato para ambas longitudes de onda (Figura 3.9). A continuación, se han estudiado distintas películas de biohíbridos iluminándolas con cada una de esas

longitudes de onda y analizando las imágenes resultantes tratando de localizar las diferentes fibras.

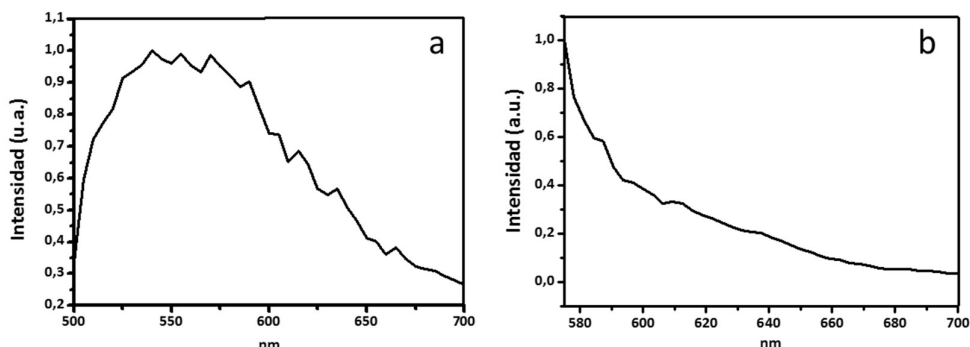


Figura 3.9. Perfiles de emisión de la sepiolita irradiada con un láser de excitación a) $\lambda = 488$ nm y b) $\lambda = 561$ nm.

En la Figura 3.10 se muestran las imágenes obtenidas para diferentes películas de híbridos CNF-SEP iluminadas en distintas condiciones. En la Figura 3.10 a, se puede ver el resultado del estudio de la porción de una película constituida exclusivamente por sepiolita que de forma natural emite tanto al ser excitada con el láser verde como con el rojo, mostrando una gran homogeneidad, pero no siendo posible distinguir fibras individualizadas en la película, posiblemente debido a un elevado grado de integración e interacción entre ellas. En la Figura 3.10 b se muestra las imágenes para una película que contiene un 1% de sepiolita. En la imagen obtenida por reflexión se pueden apreciar fibras de CNF que presentan cierto grado de agregación. En las imágenes obtenidas tras la excitación láser se puede ver la dispersión de la sepiolita dentro de la CNF, observándose que hay ciertas zonas con pequeñas acumulaciones de sepiolita. Similares conclusiones se pueden obtener del resto de las imágenes observadas. Así, por ejemplo, en la Figura 3.10 c se muestran imágenes de una película constituida por un 2% de sepiolita y en la Figura 3.10 d las de un biohíbrido con un contenido en sepiolita del 10%, confirmando las observaciones anteriores.

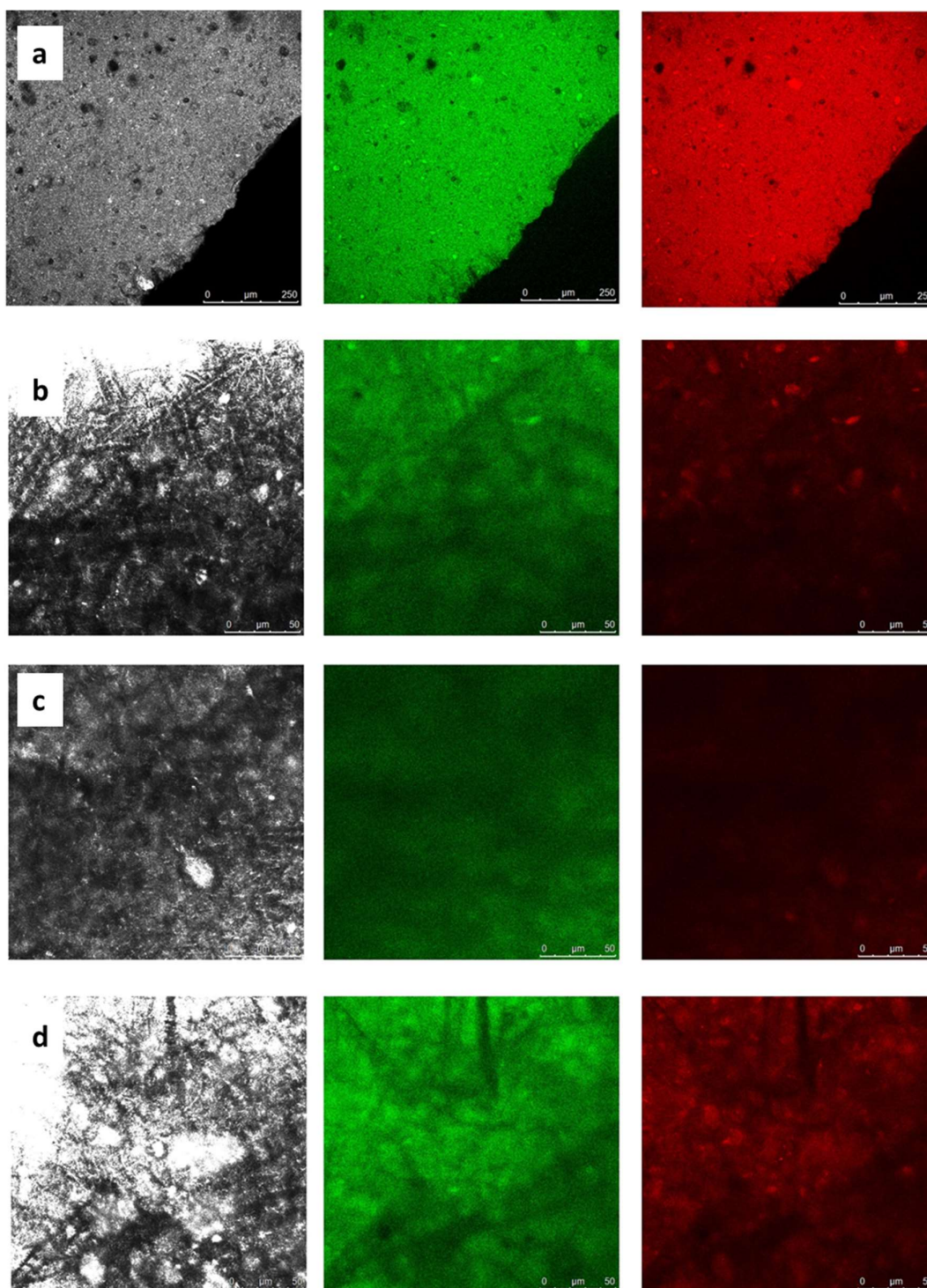


Figura 3.10. Imágenes de microscopía confocal obtenidas por reflexión de la luz (en gris en columna de la izquierda), emisión al iluminar con láser $\lambda = 488$ nm (en verde en columna del centro) y láser $\lambda = 561$ nm (en rojo en columna de la derecha), de las películas de a) sepiolita y de los biohíbridos b) CNF-SEP 99-1, c) CNF-SEP 98-2 y d) CNF-SEP 90-10.

La técnica de microscopía confocal permite además obtener información sobre cómo es la superficie de las películas estudiadas y el perfil de las mismas, dando idea de la presencia de mayor o menor rugosidad en las muestras. Para ello, lo que se hace es combinar las imágenes obtenidas, de una visión perpendicular, en el canal de reflexión (424-466 nm), en el de emisión en el rango verde (500-550 nm) y en el de emisión en el rango del rojo (575-680 nm). El resultado obtenido de esta superposición se muestra en la Figura 3.11.

En las imágenes las bandas que aparecen situadas en la parte inferior y lateral derecha corresponden al perfil de la superficie de las películas que se visualizan en la correspondiente imagen que puede relacionarse con la rugosidad superficial de la muestra. Apparently the presence of a greater quantity of sepiolite provokes a greater roughness of the film. However, the biohybrid that contains a 2% of sepiolite presents exclusively the lowest roughness of all. This singularity does not seem to have a clear explanation, it could be in any case related to the distribution and degree of intercrossing between the two types of fibers involved, which could condition in the drying process an organization more or less ordered. As further discussed, the organization of fibers on the surface of the films of the biohybrids is determinant in their hydrophilic properties.

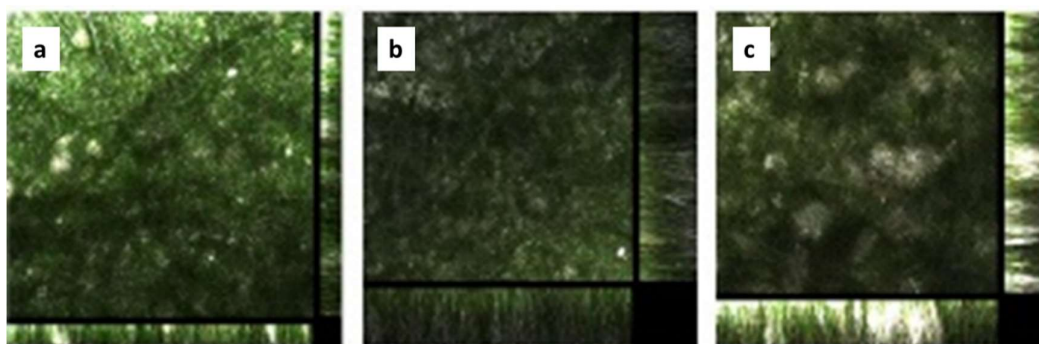


Figura 3.11. Superposición de imágenes obtenidas con diferentes canales en la visualización de películas de los biohíbridos a) CNF-SEP 99-1, b) CNF-SEP 98-2 y c) CNF-SEP 90-10.

3.1.6 Espectroscopía FTIR

Los biohíbridos fueron también caracterizados mediante espectroscopia infrarroja, mostrándose en la Figura 3.12 los espectros obtenidos en muestras diluidas en KBr, así como en películas de las muestras puras (en este caso espectros en la región de $3728 - 3665 \text{ cm}^{-1}$). Estos últimos espectros permiten visualizar los posibles cambios que pueden ocurrir en la banda a 3720 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones de tensión del enlace O-H de los grupos Si-OH localizados en la superficie externa de la sepiolita (Ruiz-Hitzky 2001). La modificación o desplazamiento de esta banda aporta información sobre la interacción de este grupo con otras especies y por ello no puede ser analizada en las muestras que contienen KBr, ya que esta sal al interaccionar con los grupos silanoles provoca un desplazamiento de la banda hacia menores valores de frecuencia y se ocultan por la absorción IR intensa debida a las vibraciones OH de las moléculas de agua integradas en la sepiolita (Ahlrichs y col. 1975), lo cual impide el análisis de otras posibles interacciones.

En el espectro de la sepiolita obtenido en KBr (Figura 3.12 a') se pueden distinguir tres zonas, de 4000 a 2800 cm^{-1} donde se encuentran las bandas correspondientes a las vibraciones de los diferentes grupos hidroxilos, la zona entre 1800 y 1400 cm^{-1} que contiene las bandas correspondientes a la deformación del enlace O-H, y la zona entre 1400 y 400 cm^{-1} , que corresponde principalmente a las bandas características de los silicatos, de vibración de tensión de los enlaces Si-O y de deformación de los enlaces O-H. La banda de absorción comprendida en la región entre 3650 y 3000 cm^{-1} es la región asignada a la vibración de tensión del enlace O-H de las moléculas de agua asociadas a la estructura de la sepiolita. La vibración de tensión de las moléculas de agua coordinada se asigna a las bandas a 3627 y 3550 cm^{-1} . Se pueden observar además dos bandas situadas a 1668 y 1623 cm^{-1} correspondientes a las bandas de deformación del H-O-H de agua (coordinada y zeolítica).

En el espectro de la CNF (Figura 3.12 b') se distingue una banda de absorción entre 3620 - 3293 cm^{-1} que corresponde principalmente a las vibraciones de tensión O-H de los grupos hidroxilos secundarios. Se pueden observar además otras bandas características como son las que aparecen en torno a 2900 cm^{-1} y 1614 cm^{-1} , asignadas a las vibraciones de tensión de los grupos C-H y O-H, respectivamente. La banda a 1160

cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del enlace C-O-C de los anillos de piranosa y la banda a 893 cm^{-1} es la asignada a las vibraciones de tensión de los enlaces glucosídicos (Deepa y col. 2015).

En el espectro del material híbrido CNF-SEP 50-50 puede observarse como la intensidad de la banda a 3719 cm^{-1} ha disminuido respecto a la sepiolita pura. Esta perturbación apunta a la existencia de una posible interacción por enlaces de hidrógeno entre los hidroxilos de los grupos silanoles de la superficie de la sepiolita y los hidroxilos localizados en la superficie de las fibras de celulosa. Un comportamiento similar ha sido previamente descrito en otros materiales nanoestructurados basados en sepiolita en interacción con diverso tipo de especies incluidos nanopartículas de óxidos metálicos a las que pueden unir mediante enlaces de tipo covalente o a distintos tipos de biopolímeros, incluidos diferentes carbohidratos, donde la interacción se establece a través de enlaces de hidrógeno (Ruiz-Hitzky 2001; Alcântara y col. 2014; Castro-Smirnov y col. 2016). La banda a 3688 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de tensión de los grupos hidroxilos unidos a los átomos de magnesio (Ahlrichs y col. 1975). Esta banda permanece invariable debido a su inaccesibilidad, ya que estos grupos hidroxilo unidos a iones Mg^{2+} se encuentran localizados dentro de los bloques estructurales de la sepiolita.

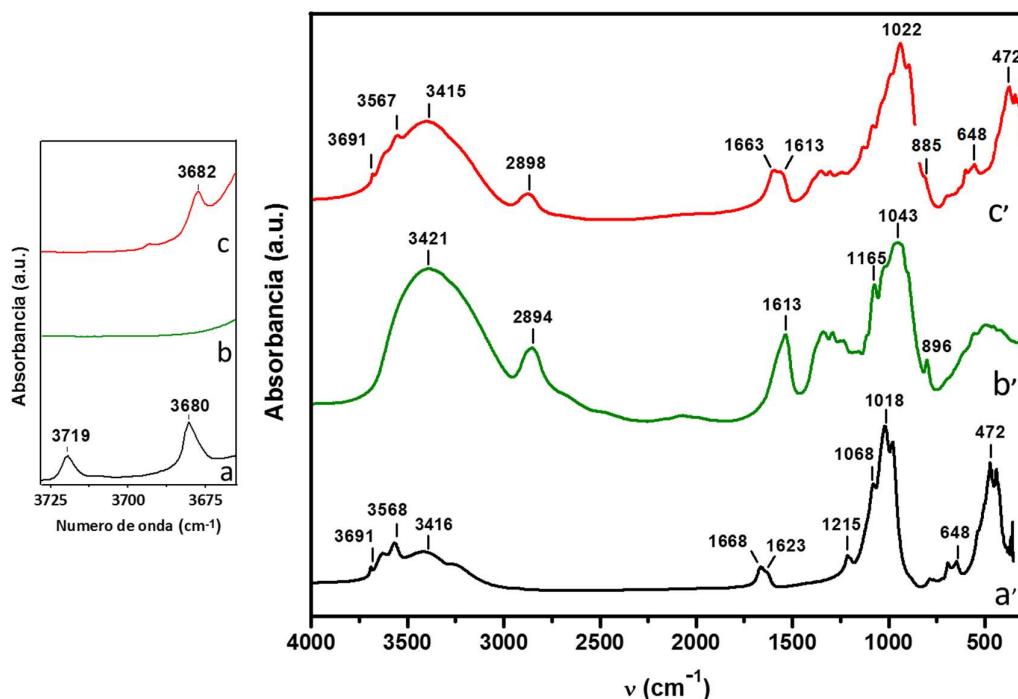


Figura 3.12. Espectros de FTIR de a y a') sepiolita, b y b') película de CNF y c y c') película del biohíbrido CNF-SEP 50-50 obtenidos en muestras puras (3728 – 3665 cm⁻¹) a la izquierda y en muestras diluidas en KBr (4000 – 250 cm⁻¹) a la derecha.

3.1.7. Difracción de rayos X

El material híbrido CNF-SEP ha sido caracterizado mediante difracción de Rayos X. En la Figura 3.13, se muestran los difractogramas correspondientes a una película de CNF (Fig. 3.13 a) y a una película de sepiolita (Fig. 3.13 b). Tal y como se ha comentado en la introducción (Apartado 1.3.1) la celulosa presenta diferentes estructuras cristalinas, si bien, la del tipo I es la producida naturalmente por especies arbóreas, siendo el alomorfo I β el tipo predominante en este caso. Por tanto, en los difractogramas de rayos X obtenidos deben de ser predominantes los picos asociados a este último alomorfo dada la procedencia de la CNF utilizada en este trabajo. Así, en el difractograma correspondiente a una película de CNF (Figura 3.13 a) se observa una reflexión a 14,7 grados de 2θ (0,60 nm) asociada al plano cristalino (1-10) y otra a 21,9 grados (0,40 nm) asociada al plano (200), ambos característicos de la estructura cristalina del alomorfo I β . En el difractograma de la sepiolita (Figura 3.13 b) se pueden

apreciar los picos cristalográficos característicos de las reflexiones de este silicato microcristalino, donde el pico situado a 7,26 grados 2θ (1,19 nm) corresponde al plano (110), el pico situado a 26,59 grados 2θ (0,33 nm) es el correspondiente al plano (080) y los picos situados a 33,28 (0,27 nm) y 40,34 (0,22 nm) grados 2θ , corresponden a los planos (371) y (541), respectivamente.

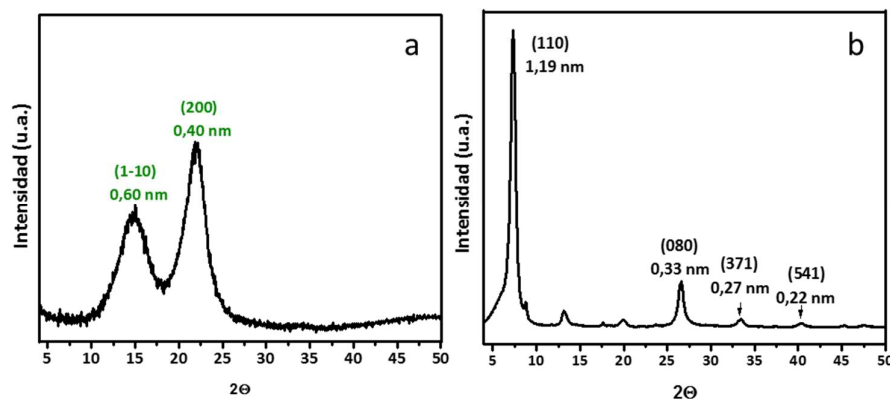


Figura 3.13. Difractogramas correspondientes a: a) película de CNF y b) película de sepiolita.

En la Figura 3.14, se presentan los difractogramas correspondientes a varios de los biohíbridos preparados con diferentes proporciones de cada uno de los componentes. En todos los casos los difractogramas han sido obtenidos en muestras procesadas en forma de película. En los difractogramas de muestras que contienen una proporción de sepiolita mayor del 50% (diagramas d, a, g en Figura 3.14) son claramente visibles los picos de la misma (Darder y col. 2006). Sin embargo, las reflexiones características de la celulosa (Zugenmaier 2001; French 2014) no son detectables debido a la elevada cantidad de sepiolita y la relativamente alta cristalinidad de ésta en comparación con la nanocelulosa. Cuando el contenido de CNF aumenta (difractogramas b y c en Figura 3.14), se produce un descenso relativo en la altura de los picos asociados a la sepiolita, llegando a desaparecer algunos de los menos intensos, siendo entonces visibles los picos asociados a la CNF. En las películas que contienen tanto CNF como sepiolita, no se aprecian desplazamientos de los picos asociados al silicato, lo que significa, que las interacciones que puedan existir entre ambos tipos de fibras no son los suficientemente intensos como para producir cambios estructurales. Sin embargo, es llamativo el hecho de que para ciertas composiciones,

no sean observables algunos de los picos más intensos asociados a la sepiolita, como por ejemplo ocurre en las películas del híbrido CNF-SEP 50-50 (Figura 3.14 d). En otros biohíbridos con una proporción pequeña de CNF, como es el caso de las películas de CNF-SEP 10-90 y 20-80 (Figura 3.14 g y f), se observa una disminución de intensidad del pico (110) y un aumento de la intensidad del pico (080) que pasa a ser el de mayor intensidad. Estas observaciones parecen indicar que la presencia de CNF distorsiona la orientación de las fibras de sepiolita en los biohíbridos conformados como películas, potenciándose en unos casos ciertas orientaciones y en otros casos otras. La explicación a este fenómeno es compleja, por lo que actualmente se están realizando estudios de dispersión de rayos X a alto ángulo ("WAXS", Wide Angle X-Ray Scattering) a fin de poder tener información adicional sobre las orientaciones de las fibras y ver si es posible dar una explicación a este fenómeno.

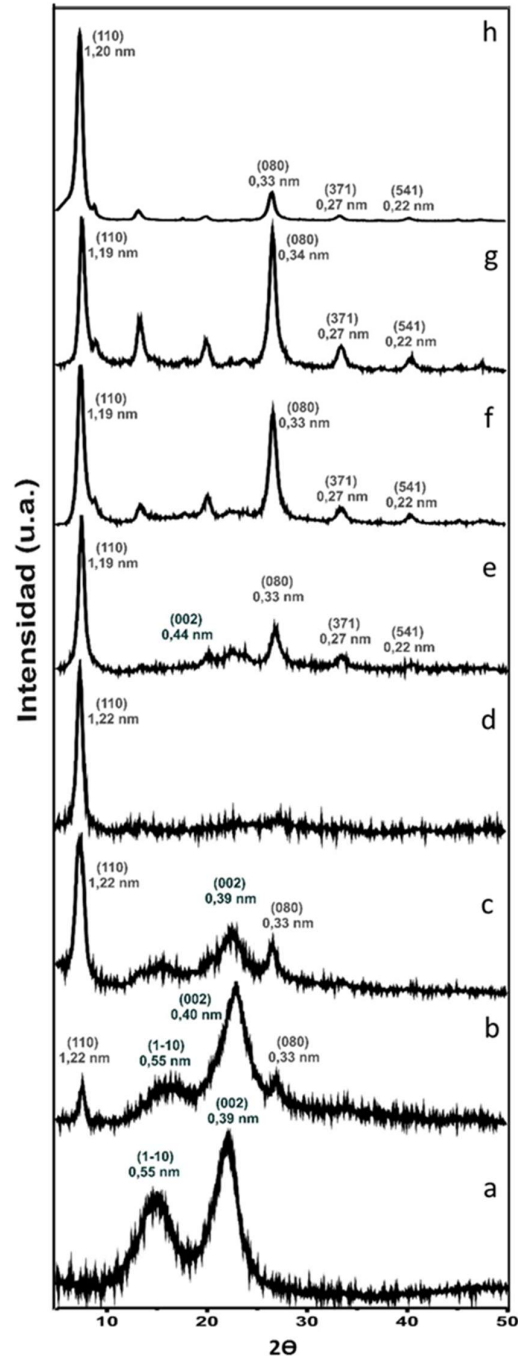


Figura 3.14. Difractogramas correspondientes a películas de diferentes biohíbridos CNF-SEP con diferente composición: a) película de CNF pura, b) CNF-SEP 95-5, c) CNF-SEP 80-20, d) CNF-SEP 50-50, e) CNF-SEP 40-60, f) CNF-SEP 20-80, g) CNF-SEP 10-90, h) sepiolita pura.

3.1.8. Estudio del dicroísmo en los espectros FTIR

Los resultados del estudio de difracción de rayos X parecen indicar que hay cierta preferencia en la orientación de las fibras como consecuencia de la interacción entre ambos tipos de componentes y ello puede originar cambios de orientación en las fibras de sepiolita en función de la composición del biohíbrido. Ruiz-Hitzky (Ruiz-Hitzky 2001) describió que las bandas en la región del infrarrojo asociadas a las vibraciones de tensión O-H asignadas a los grupos Si-OH y Mg-OH de la sepiolita son dicroicas, habiendo sido utilizada esta propiedad para estudiar la posible orientación de moléculas de piridina que se habían incorporado previamente en los túneles estructurales del silicato. Tomando como base ese estudio, se ha analizado aquí la variación de intensidades en dichas bandas cuando se obtienen los correspondientes espectros de FTIR orientando las películas del material a 0° y 45° con respecto al haz incidente. En la Figura 3.15 se muestran los espectros IR con las bandas correspondientes a la vibración de tensión del enlace H-O, tanto del grupo –SiOH (3720 cm^{-1}) como del grupo –MgOH (3680 cm^{-1}), obtenidos en películas de varios biohíbridos CNF-SEP colocadas en las dos orientaciones, mostrándose los valores del área integrada para dichas bandas y la relación relativa entre ambas para cada orientación en la Tabla 3.2. Se observa claramente que se produce un cambio con la orientación aumentando la intensidad de la banda asociada a los enlaces Mg-OH respecto a los Si-OH a medida que aumenta la cantidad de CNF incorporada, pasándose de una relación de 1,32 para 0° en la sepiolita o un 1,58 para 45°, a una relación de 3,39 para 0° o un 6,91 a los 45° en la muestra con un contenido del 20% en CNF. Cuando la cantidad de sepiolita llega a ser del 50%, no se puede establecer esta relación, dado que la banda a 3720 cm^{-1} ya no es observable como consecuencia de que la frecuencia donde aparece se modifica debido a la interacción entre ambos tipos de fibras, si bien se sigue apreciando con una menor intensidad la banda de MgOH cuando la película se orienta a 45°. Para interpretar estos resultados debe de tenerse en cuenta que, en el caso de la película de sepiolita, las fibras se encuentran dispuestas de forma plana sobre el plano de la propia película. La adición de CNF impide que las fibras del silicato adopten esta disposición, generando variaciones en las relaciones entre áreas como consecuencia de sus diferentes orientaciones o disposiciones lo que puede ser detectado en este estudio de dicroísmo. Estos cambios en la orientación de

las fibras también han sido observados mediante FE-SEM se muestran en la Figura 3.16 de la sección transversal de una película del biohíbrido CNF-SEP 50-50.

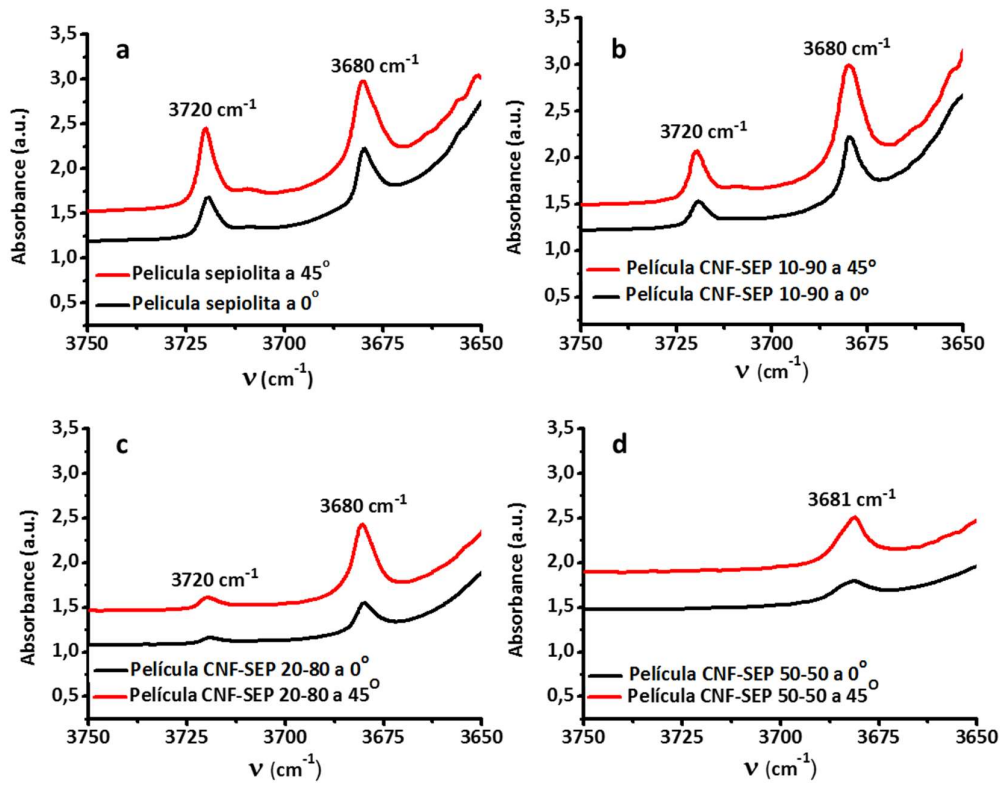


Figura 3.15. Espectro de FTIR obtenido a 0 y 45° con respecto al haz incidente en películas de: a) sepiolita pura y de los biohíbridos b) CNF-SEP 10-90, c) CNF-SEP 20-80, y d) CNF-SEP 50-50.

Tabla 3.2. Áreas obtenidas tras integrar las bandas Mg-OH y Si-OH y relación relativa entre ellas a 0 y 45°.

Material	CNF (%)	SEP (%)		Mg-OH Área 3680 cm ⁻¹	Si-OH Área 3720 cm ⁻¹	relación v OH Mg/Si
Película de Sepiolita	0	100	0°	2,525	1,918	1,32
			45°	5,897	3,731	1,58
Película de CNF-SEP 10-90	10	90	0°	2,635	1,078	2,44
			45°	7,244	2,295	3,16
Película de CNF-SEP 20-80	20	80	0°	0,357	1,210	3,39
			45°	5,127	0,742	6,91
Película de CNF-SEP 50-50	50	50	0°	1,294	-	-
			45°	2,696	-	-

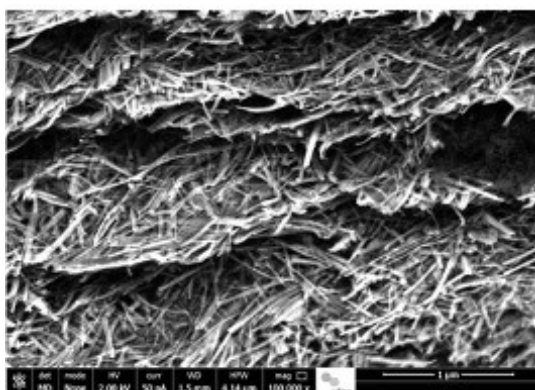


Figura 3.16. Imagen de FESEM de la sección transversal de una película del biohíbrido CNF-SEP 50-50.

3.1.9. Espectroscopia XPS

La composición química a corto rango de películas de CNF y del biohíbrido CNF-SEP 50-50 se estudió mediante espectroscopía de fotoemisión de rayos X (XPS). En la Tabla 3.3 se recogen los valores de la concentración atómica encontrada para cada una de las muestras, comprobándose que los principales elementos son carbono, oxígeno y sodio, aunque en ambas se ha detectado también silicio (presente en su forma

oxidada) y trazas de calcio. La presencia de sodio y de silicio en la muestra de CNF es atribuible a la presencia de residuos procedentes de los productos usados durante el proceso de obtención de la pulpa, o también a algún componente inorgánico (por ejemplo sílice) presente en la madera de partida. En efecto, en la industria del papel, y dependiendo del tipo de madera empleado, es frecuente encontrar en las pulpas producidas los siguientes elementos: carbono, calcio, potasio, magnesio, fósforo y sodio, además de algunos compuestos como SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , CaO , MgO , etc (Matuana y col. 2001).

Tabla 3.3. Composición atómica de películas de CNF y del biohíbrido CNF-SEP 50-50 determinadas a partir de los correspondientes espectros de XPS.

	C (%)	O (%)	Na (%)	Si (%)	Ca (%)
CNF	56,6	15,0	24,2	4,0	0,2
CNF-SEP 50-50	28,9	21,3	36,6	13,2	0

En un análisis más detallado, se obtuvieron los espectros de C1s y O1s con una energía y un paso de 20 eV y 0,1 eV, respectivamente. En dichos espectros los efectos de carga eléctrica de la muestra han sido corregidos asumiendo que el pico atribuido a los enlaces C-O se encuentra localizado a 287 eV. Los espectros han sido normalizados para maximizar la intensidad de cada pico y facilitar la comparación entre diferentes muestras. En la Figura 3.17 se muestran los espectros de fotoemisión de C1s y O1s correspondientes a la CNF y al biohíbrido CNF-SEP 50-50. El espectro de C1s es complejo y corresponde a una señal compuesta de varias contribuciones asociadas a átomos de C implicados en los distintos enlaces en la CNF, como se discute más abajo, generándose cambios muy significativos en la forma del mismo cuando la sepiolita está presente. Por el contrario, el espectro correspondiente al O1s no muestra variaciones significativas, dentro de la resolución experimental, para ambos tipos de materiales, por lo que la deconvolución de los espectros de O1s no ha sido necesaria en este caso y puede concluirse que en ambos sistemas todos los átomos de oxígeno están implicados en enlaces del mismo tipo.

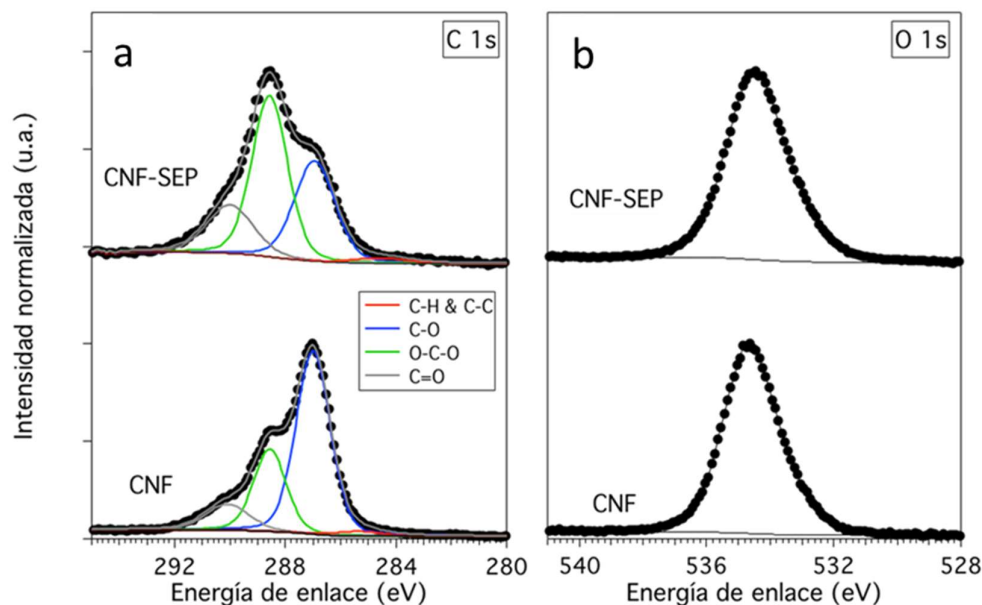


Figura 3.17. Espectros de XPS relativos a las señales de C1s (a) y O1s (b) obtenidos en películas de CNF y del biohíbrido CNF-SEP 50-50.

Como ya se ha comentado, el espectro de C1s muestra una estructura más compleja pudiendo ser deconvolucionado en cuatro componentes localizadas a 285,3 eV, 287,0 eV, 288,5 eV y 290,0 eV. La señal a 285,3 eV se asigna a átomos de carbono en hibridación sp^3 implicados en enlaces C-C o C-H (Okpalugo y col. 2005; Martinez y col. 2007). Tanto en el espectro de la CNF como en el del biohíbrido son los menos abundantes y pueden ser atribuidos a la presencia de alguna contaminación, tal vez hemicelulosas o residuos de lignina (Johansson y Campbell 2004). La componente a 287,0 eV corresponde a los átomos de C implicados en enlaces C-O, es decir, a los carbonos en posiciones 2 y 3 del anillo de piranosa unidos a grupos hidroxilo, al carbono 5 unido al oxígeno del anillo y al carbono 4 implicado en el enlace glucosídico (véase la descripción de la estructura de la celulosa en el apartado 1.3.1.) (Okpalugo y col. 2005; Martinez y col. 2007). La señal situada a 288,5 eV indica la presencia de enlaces O-C-O, que en el caso de la CNF están asociados al carbono 1 que forma parte también del enlace glucosídico (Johansson y Campbell 2004). Y por último, la señal a 290,0 eV corresponde a los átomos de carbono implicados en un enlace C=O, que en este caso es el carbono 6 asociado al grupo carboxílico (Johansson y Campbell 2004). En el caso de la CNF, la forma, el número de componentes y sus posiciones en el espectro son muy próximos a los descritos en la bibliografía (Johansson y Campbell

2004). Los valores relativos de la contribución de cada una de las componentes a la señal observada, determinados a partir de la deconvolución, tanto para la CNF como para el biohíbrido CNF-SEP 50-50, se indican en la Tabla 3.4. Como ya se ha indicado, claramente la señal asociada a los enlaces C-H y C-C es la de menor intensidad. La segunda menos intensa es la relacionada con los enlaces C=O ya que hay menos C implicados en ella y se mantiene con una intensidad relativa próxima en ambos tipos de materiales. Sin embargo, las intensidades relativas asociadas a las señales correspondientes a los enlaces C-O de los carbonos 2, 3, 4 y 5 respecto a la de los enlaces O-C-O asociados al carbono 1 invierten su intensidad relativa cuando la CNF se encuentra asociada a sepiolita. Así los enlaces C-O son los más abundantes en la CNF pareciendo que la adición de sepiolita los perturba de algún modo. En este sentido, la explicación más plausible parece indicar una interacción entre algunos de los grupos hidroxilos de la CNF (carbono 2 y carbono 3) con los hidroxilos de los grupos silanoles de la sepiolita. Esta interpretación está también en concordancia con los resultados previamente discutidos en el estudio de FTIR, donde los cambios observados en la banda asociada a las vibraciones O-H de dichos grupos indicaban la existencia de interacción por enlaces de hidrógeno con otras especies próximas a la superficie de las fibras del silicato.

Tabla 3.4. Intensidad relativa de cada una de las componentes de la señal XPS asociada a C1s determinada a partir del ajuste de los espectros obtenidos para la CNF y el biohíbrido CNF-SEP 50-50.

	C=O (%)	O-C-O (%)	C-O (%)	C-H & C-C (%)
CNF	11,0	26,0	61,0	2,0
CNF-SEP 50-50	18,2	46,4	33,0	2,4

3.1.10. Resonancia Magnética Nuclear

La interacción entre nanofibras de celulosa y de sepiolita fue igualmente estudiada mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) de sólidos para los núcleos ^{29}Si y ^{13}C . En la Figura 3.18 se muestran los espectros de ^{29}Si -MAS-RMN de la sepiolita y del material híbrido constituido por CNF y sepiolita en una

proporción del 50%. De manera general en ^{29}Si -RMN se esperan picos a desplazamientos químicos comprendidos entre -70 y -95 ppm para átomos de silicio en entornos de tipo Q^0 , Q^1 y Q^2 , y a desplazamientos químicos de entre -95 y -120 para señales de tipo Q^3 y Q^4 . Estas señales Q^n corresponden a átomos de silicio que están enlazados a través de cuatro átomos de oxígeno y donde el valor de n , que puede variar de 0 a 4, está asociado al número de las mismas en que lo hacen con átomos de silicio mediante puentes siloxano (Si-O-Si). Así, por tanto, una señal Q^3 corresponde a átomos de silicio unidos mediante puentes siloxano a tres átomos de silicio, y el cuarto enlace sería con otro tipo de átomo, por ejemplo, podría ser un átomo de hidrógeno formando un grupo silanol. En el espectro RMN de la sepiolita se pueden observar cuatro señales características que se corresponden con una señal Q^2 a 85,7 ppm asociada a los átomos de silicio involucrados en los grupos silanoles (Si-OH) superficiales (Sanz 1990), y con tres señales Q^3 atribuidas a átomos de silicio implicados en enlaces de tipo Si-O-Mg pero en distintas posiciones cristalográficas de los bloques estructurales del silicato. En la sepiolita utiliza en este estudio las tres señales Q^3 aparecen a -92,4 ppm, asignada a los Si ubicados cerca de los “bordes”, a -95,0 ppm, asociada a los Si en los centros de cada bloque, y a -98,6 ppm

correspondiente a los Si ubicados en los “bordes” de los bloques estructurales (Barron y Frost 1985). La comparación del espectro de ^{29}Si -MAS-RMN de la sepiolita (Figura 3.18 a) con el del biohíbrido CNF-SEP 50-50 (Figura 3.18 b) indica solo muy ligeras diferencias en la posición de dos de las tres señales Q^3 , pasando de -92,4 y 94,7 a -92,6 y 95,0 ppm, respectivamente. Además, la señal correspondiente a los átomos de silicio de los grupos silanoles aparece con una intensidad algo inferior y ligeramente desplazado a campo magnético más alto (desde -85,3 a -85,9 ppm). Estas pequeñas diferencias entre los espectros de ambos materiales sugieren que el ensamblado de ambos tipos de fibras en el biohíbrido sólo afecta ligeramente a la estructura del silicato y en todo caso las interacciones entre ambas no son fuertes y prácticamente se producen a través de los grupos silanoles del silicato.

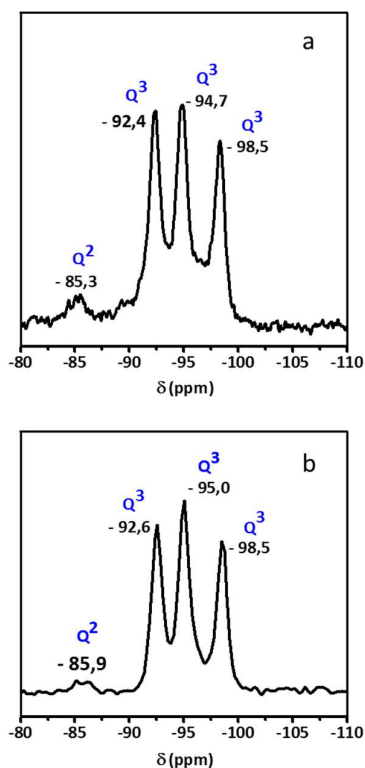


Figura 3.18. Espectros de ^{29}Si -MAS-MNR a) de la sepiolita y b) del biohíbrido CNF-SEP 50-50.

Por otro lado, en la Figura 3.19 se muestran los espectros de ^{13}C CP-MAS NMR de las nanofibras de celulosa (Figura 3.19 a) y del biohíbrido CNF-SEP 50-50 (Figura

3.19 b). En esta misma figura puede verse la asignación de cada señal a su correspondiente átomo de carbono. La comparación entre ambos espectros no muestra diferencias relevantes, siendo solamente detectable alguna pequeña variación de los desplazamientos químicos de las señales lo cual apunta a la implicación de la CNF en sus interacciones con sepiolita. En cualquier caso, estos resultados sugieren que ambos materiales conservan sus estructuras características y se confirma nuevamente que existe una interacción entre ambos tipos de fibras, aunque esta puede ser relativamente débil.

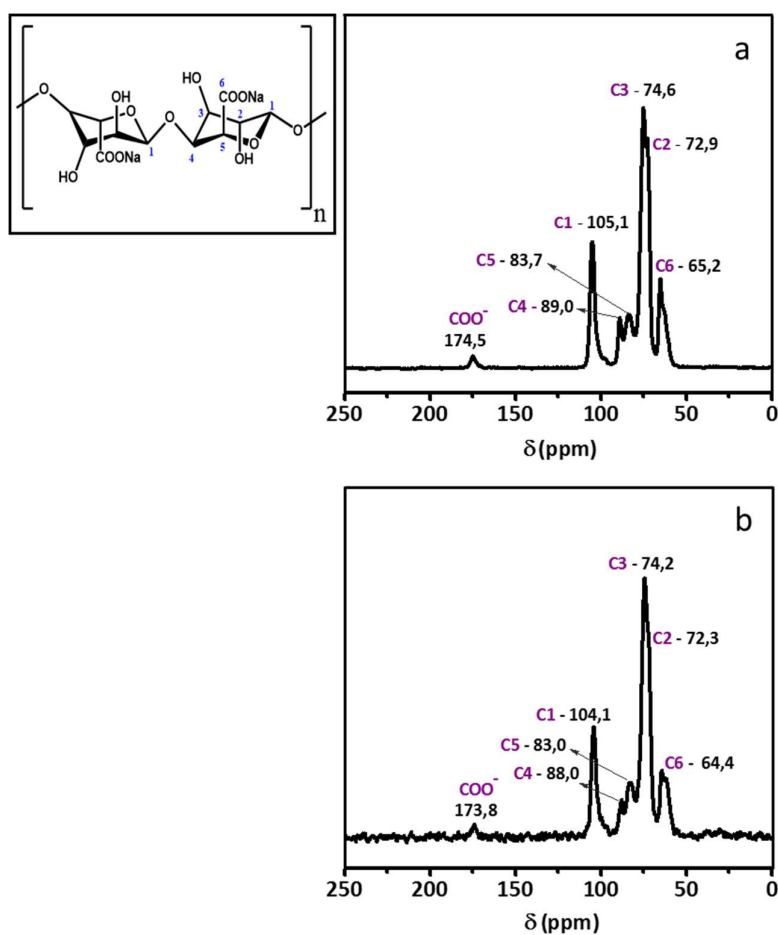


Figura 3.19. Espectros de ^{13}C CP-MAS NMR a) de la CNF5, y b) del biohíbrido CNF-SEP 50-50.

3.1.11. Isotermas de adsorción de nitrógeno

El estudio de la superficie específica tanto de los materiales de partida como de los materiales híbridos CNF-SEP aquí preparados por secado de sus hidrogeles precursores y conformados como películas, proporciona información sobre el grado de integración de ambas fibras y de los cambios en sus propiedades de superficie cuando se encuentran formando parte del material híbrido.

La sepiolita de partida presenta una isoterma del tipo I/II (Figura 3.20 a) según la clasificación de Brunauer-Deming-Deming-Teller (BDDT) (Brunauer y col. 1940) asociada a una estructura micro-mesoporosa con un bucle de histéresis tipo H3. A bajas presiones relativas, la isoterma es del tipo I, como corresponde al proceso de llenado de los microporos y a altas presiones exhibe adsorción en multicapas, debido a la presencia de mesoporosidad en el material, siendo del tipo II. (Rouquerol y col. 1999).

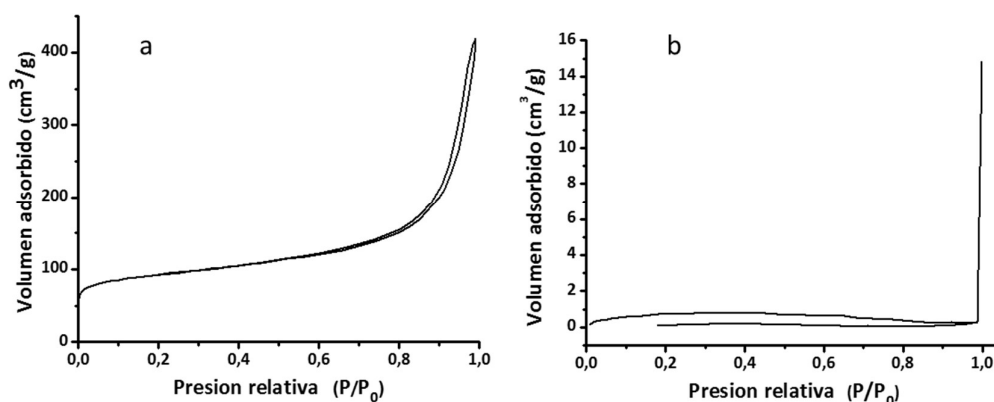


Figura 3.20. Isotermas de adsorción de N_2 de a) la sepiolita de partida y b) de una película de CNF preparada por secado de su hidrogel precursor.

La CNF obtenida por secado al aire del hidrogel de partida conformado como película (Figura 3.20 b), presenta una isoterma característica de un material no poroso de acuerdo con la descripción de Jiang y Hsieh (Jiang y Hsieh 2014). Los bajos valores de superficie específica que presenta la CNF preparada por secado del hidrogel inicial, concuerdan con los previamente descritos en la bibliografía para otras nanocelulosas,

con valores de superficie específica de unos 30 m²/g (Jiang y Hsieh 2014). De hecho, en muchos de los trabajos se realizan diferentes tipos de procesamiento de este tipo de fibras para conseguir materiales con mayor porosidad, así por ejemplo se han aplicado condiciones de secado por liofilización, consiguiendo aumentar la superficie específica a valores que se pueden elevar a 120 m²/g. (Jiang y Hsieh 2014).

En la Figura 3.21 se muestran las isotermas de adsorción/desorción de los materiales biohíbridos CNF-SEP 50-50 y CNF-SEP 80-20. En el material biohíbrido CNF-SEP 50-50, el volumen de N₂ adsorbido es muy inferior al del adsorbido por la sepiolita de partida, incluso considerando que el contenido en la misma es en este caso solo del 50%. Este hecho apunta a que al combinarse ambos tipos de materiales, las nanofibras de CNF deben de estar en íntima interacción con las de sepiolita. Así, se explicaría que un recubrimiento de la sepiolita por nanofibras de CNF provocaría una disminución drásticamente de su capacidad de adsorción de nitrógeno, al producirse según dicha interacción un bloqueo de túneles y canales de esta arcilla provocando la drástica reducción de la contribución de la misma a la superficie total del material. Este efecto es típico de otros tipos de materiales nanoestructurados basados en sepiolita, desde bionanocomposites, como por ejemplo quitosano/sepiolita (Darder y col. 2006) hasta nanoarquitecturas que incorporan nanopartículas, por ejemplo de TiO₂ (Aranda y col. 2008), donde se ha postulado que los distintos componentes ensamblados a las fibras de sepiolita taponan poros estructurales de la misma produciendo una disminución de la superficie específica.

En los materiales biohíbridos con bajo contenido en sepiolita, como por ejemplo CNF-SEP 80-20 (Figura 3.21 b), la isoterma presenta un aspecto similar al obtenido para la nanocelulosa de partida (vide supra) mostrando igualmente un aspecto anómalo que no se encuentra en materiales sólidos inorgánicos. En la Tabla 3.6 se muestran los valores de superficie específica tanto de los materiales de partida como de varios ejemplos de los materiales biohíbridos preparados y conformados como películas por secado de los geles precursores. Es destacable el hecho de que para el material biohíbrido que contiene un 50% de sepiolita, la disminución de la superficie específica sea mucho mayor de lo que se cabría esperar, teniendo en cuenta la alta proporción en la que se encuentra. La importancia de esta observación radica

en que se corrobora la íntima interacción que se da entre ambos tipos de fibras, pasando de tener una superficie de microporo de 176 m²/g, en el caso de la sepiolita de partida, a que se pierda totalmente su microporosidad en la preparación del material biohíbrido CNF-SEP aun involucrando cantidades relativas importantes del silicato.

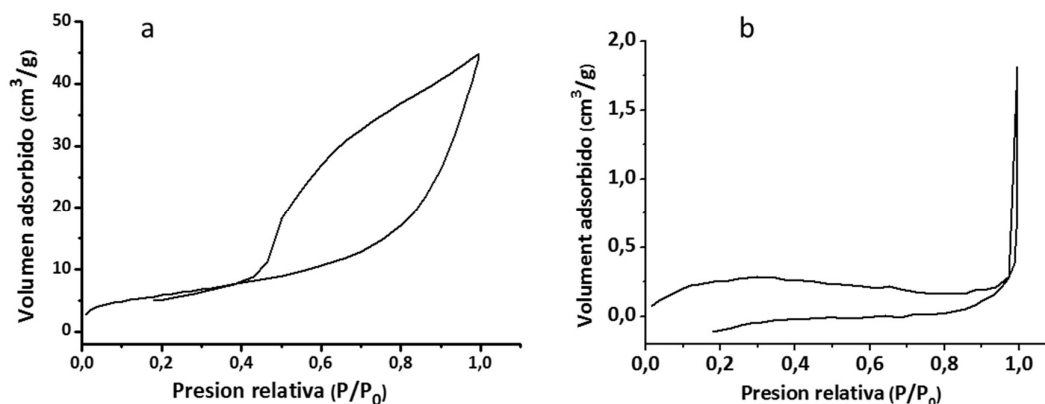


Figura 3.21. Isothermas de adsorción de N₂ de a) CNF-SEP 50-50 y b) de CNF-SEP 80-20 preparados como películas por secado de los hidrogeles precursores.

Tabla 3.6. Valores de superficie específica.

Material	SBET (m ² /g)
Sepiolita	322
CNF-SEP 50-50	13
CNF-SEP 80-20	1
CNF-SEP 90-10	3
CNF	2

3.1.12. Isothermas de adsorción de agua

El estudio de las isothermas de adsorción de agua fue realizado empleando un equipo en el que se registran los cambios de masa de una muestra con el incremento de la humedad relativa para una temperatura constante. En la Figura 3.22 a, se pueden observar las isothermas de adsorción de agua a 26 °C correspondientes a una película

de CNF obtenida por secado a 30 °C y humedad del 60% HR de un hidrogel preparado a partir de la muestra de partida CNF (ver parte experimental 2.3.1), así como de una película de sepiolita preparada tras ser procesada en las mismas condiciones que se han empleado para la CNF. También se muestran las isotermas de diversas películas de biohíbridos CNF-SEP de composición variable.

Del análisis general de estas isotermas parece claro que el ensamblaje de ambos tipos de fibras origina materiales que presentan un carácter menos hidrofílico que para la sepiolita de partida. La isoterma obtenida para la película de CNF preparada a partir del hidrogel CNF presenta una inflexión a valores de humedad relativa inferiores al 20%, lo que indica un carácter hidrofílico reducido. Este hecho parece un tanto sorprendente, pero puede ser explicado teniendo en cuenta que las fibras de CNF en el sólido seco pueden organizarse en un empaquetamiento que las mantiene unidas a través de fuertes enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo presentes en su superficie, lo que reduce el número de centros de adsorción de agua disponibles. (Belbekhouche y col. 2011). Las películas de biohíbridos en cuya composición hay un menor contenido en sepiolita (1, 2, 5 y hasta al menos un 10%) presentan un carácter más hidrofóbico que el de la CNF, mientras que la muestra con un contenido del 20% en sepiolita muestra ya un comportamiento muy similar al de ésta. En la Figura 3.22 b se muestra la variación en masa, expresada en porcentaje con el contenido de sepiolita, observada cuando las películas de los biohíbridos se exponen a una humedad relativa del 20%. Se puede apreciar que para biohíbridos con pequeño contenido en sepiolita se produce un descenso de la capacidad de adsorción de agua, pasando de 4% en la CNF de partida a 1,94% en el biohíbrido con un contenido en 10% en masa en sepiolita. A partir de este punto, el aumento de la cantidad de sepiolita en el biohíbrido parece favorecer la capacidad de adsorción de agua por el sistema, variando prácticamente de manera lineal con el contenido de sepiolita. Este comportamiento aparentemente extraño puede ser debido al hecho de que el proceso de secado produce un empaquetamiento de las nanofibras de celulosa, como consecuencia de las fuertes interacciones por enlaces de hidrógeno entre los diferentes grupos hidroxilos. Este efecto también puede producirse cuando la cantidad de sepiolita presente es pequeña creándose un tipo de interacción similar entre grupos

hidroxilos presentes en la superficie de ambos tipos de fibra, lo que produce una disminución en el número de centros disponibles para la adsorción de agua (Belbekhouche y col. 2011). Para contenidos de sepiolita superiores al 20%, es el comportamiento de esta el que comienza a contribuir de manera significativa al proceso de adsorción de agua y el material se vuelve más hidrofílico, por lo que las isotermas de adsorción pasan a ser más próximas a las de la sepiolita pura.

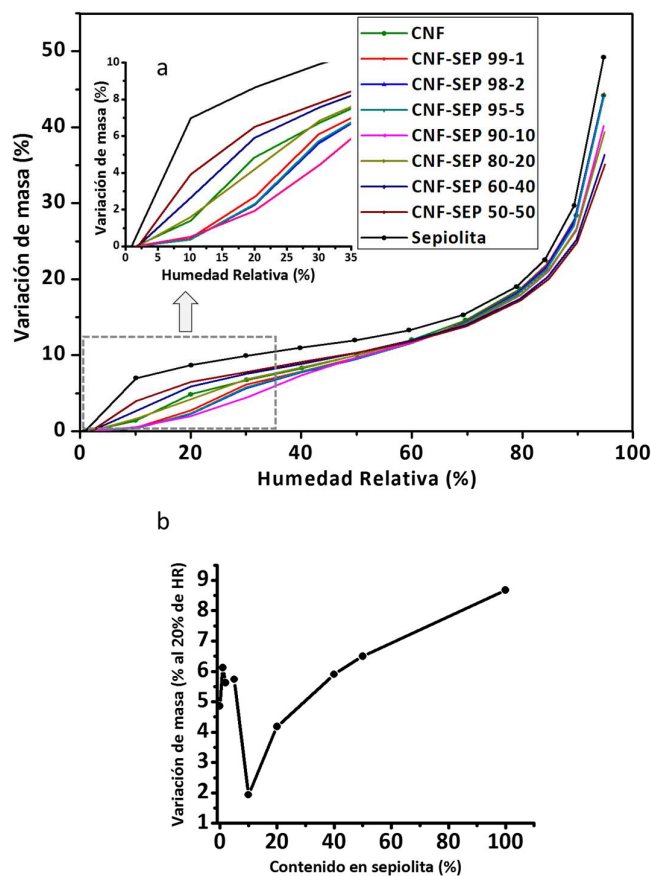


Figura 3.22. a) Isotermas de adsorción de agua a 26 °C de películas biohíbridas CNF-SEP con diferentes proporciones b) Cambio de masa del biohíbrido en función del contenido de sepiolita para una humedad relativa del 20%.

Para analizar con mayor detalle el papel de las CNF se estudió también el proceso de adsorción de agua en biohíbridos preparados con CNF en el que las nanofibras de celulosa habían sido preparadas con un mayor grado de oxidación, utilizando en este caso el hidrogel denominado CNF14 (ver detalles en el Capítulo 2.2.1). Las isotermas de adsorción de agua a 26 °C de estas películas de biohíbridos, ahora denominados CNF14-SEP, se muestran en la Figura 3.23 a. En este caso los biohíbridos están preparados con CNF cuyas fibras tienen un mayor contenido en grupos carboxilo, lo que se traduce en una mayor carga eléctrica negativa en su superficie. En este caso se observa como las isotermas, aunque de un aspecto similar, muestran un aumento de hidrofobicidad por incorporación de sepiolita, siendo evidente desde las concentraciones más pequeñas de ésta en el biohíbrido (Fig. 3.23 a). Este distinto comportamiento frente a la adsorción de agua de los materiales híbridos en función del grado de oxidación de las nanofibras de celulosa, podría estar relacionado con el contenido en grupos carboxilo, de manera que cuando su número aumenta afecta al modo con que interaccionan las fibras. De hecho, el comportamiento en presencia o ausencia de pequeñas cantidades de sepiolita es similar, lo que hace pensar que la presencia de mayor carga negativa en las fibras de CNF desfavorece la interacción con las fibras de sepiolita, probablemente como consecuencia de repulsiones de tipo electrostático, dado que la sepiolita también posee una carga neta negativa. En la Figura 3.23 b se muestra la variación en masa, expresada en porcentaje con el contenido de sepiolita observada cuando las películas de los biohíbridos se exponen a una humedad relativa del 20%. La diferencia entre estas películas preparados con CNF14 y las de los materiales híbridos preparados con la CNF habitualmente empleada en este trabajo, confirma que hay una clara influencia en la manera en que las fibras de CNF y sepiolita interaccionan como consecuencia de la carga eléctrica superficial que puede tener las nanofibras de celulosa. Esto se traduce en que el efecto de disminución en el carácter hidrofílico de las películas con pequeños contenidos de sepiolita no es tan marcado como en el caso de la CNF.

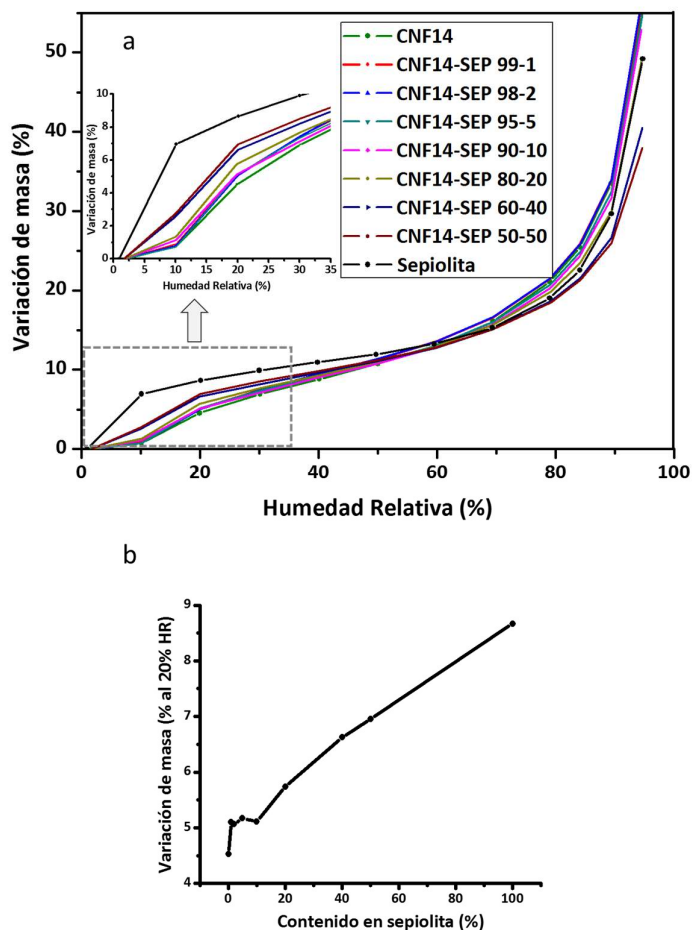


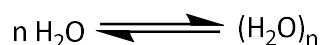
Figura 3.23. a) Isotermas de adsorción de agua a 26 °C en películas de varios materiales biohíbridos CNF-SEP preparados a partir del hidrogel CNF14 y con diferentes proporciones de ambos componentes; b) cambio de masa del biohíbrido en función del contenido de sepiolita para una humedad relativa del 20%.

Las isotermas de adsorción de agua pueden ser analizadas y ajustadas siguiendo diferentes modelos de adsorción, lo que permite obtener información relativa a los mecanismos que operan en el fenómeno de adsorción, así como del posible tipo de interacción entre las moléculas de agua y el sustrato. En la bibliografía se pueden encontrar diferentes modelos que tratan de describir la adsorción de las moléculas de agua en materiales celulósicos, siendo el más frecuentemente utilizado el denominado modelo de Park (Belbekhouche y col. 2011). Según este modelo la forma sigmoidea de la isoterma de adsorción es consecuencia de la combinación de varios mecanismos: 1) adsorción no específica (que puede interpretarse a partir de la ley de Henry); 2)

adsorción específica (que puede analizarse con la ley de Langmuir); y 3) agregación de las moléculas de agua cuando los valores de actividad de agua son elevados, es decir, cuando aparece el fenómeno conocido como *clustering*. En general, los sitios de adsorción específica pueden ser iones, grupos polares, micro-cavidades o micro-porosidades y a menudo son considerados como los núcleos en los que se forman los agregados de agua. Teniendo todo esto en cuenta, la fórmula matemática que propone el modelo de Park ($C_w = f(a_w)$) para modelizar la isoterma viene dada por la expresión:

$$C_w = \frac{AL \cdot BL \cdot a_w}{1 + BL \cdot a_w} + KH \cdot a_w + Ka \cdot a_w^n$$

El primer término describe la adsorción de tipo Langmuir, que va a dar lugar a una zona de no variación de la masa con el aumento de la actividad de agua (zona plateau) que será alcanzada cuando los sitios de adsorción específica se encuentren saturados. El segundo término del modelo, describe un incremento lineal de la variación de masa con el aumento de la actividad de agua, el cual viene ajustado por la ley de Henry. El tercer término representa el fenómeno de agregación basado en el equilibrio:



Este equilibrio que indica cómo se pasa de moléculas de agua aisladas a moléculas de agua asociadas, formando un clúster, lleva asociado una constante de equilibrio “ k_a ”. Este modelo necesita de 5 parámetros para ser definido: “AL”, dará la concentración de sitios específicos de adsorción; “BL”, es la constante de afinidad del agua a estos sitios; “KH”, es la constante de la ley de Henry; “Ka” es la constante del equilibrio de agregación; y por último “n” indica el tamaño medio de los agregados de agua. El término “ a_w ” representa la actividad de agua (Bessadok y col. 2009).

En la Figura 3.24, se muestra a título de ejemplo, los valores experimentales de la rama de adsorción de varias isothermas obtenidas en películas de biohíbridos CNF-SEP preparados con el hidrogel CNF y los ajustes a la ecuación de Park llevado a cabo para la obtención de los diferentes parámetros de la misma. En la Tabla 3.7 se recogen los valores determinados para los 5 parámetros ajustando a dicho modelo los datos experimentales de las isothermas obtenidas y aplicando un proceso iterativo.

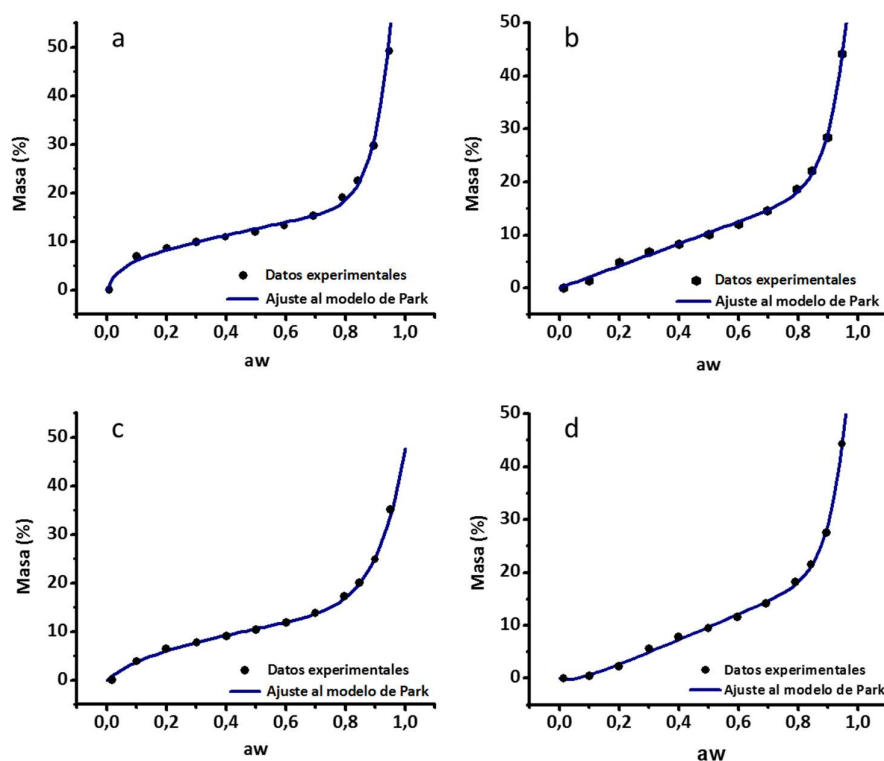


Figura 3.24. Isothermas de adsorción de agua en películas de varios biohíbridos NFC-SEP preparados a partir del hidrogel CNF y su ajuste al modelo de Park: a) sepiolita, b) CNF y los biohíbridos, c) CNF-SEP 50-50 y d) CNF-SEP 98-2.

Tabla 3.7. Parámetros que necesita el modelo de Park para ser definido.

	Sepiolita	CNF5	CNF5-S 99-1	CNF5-S 98-2	CNF5-S 90-10	CNF5-S 80-20	CNF5-S 60-40	CNF5-S 50-50
AL	7,403	1,032	-2,039	-2,767	-5,865	2,149	6,045	8,176
BL	19,711	-5,02e ⁻⁴	27,514	19,634	6,567	1,049	3,747	5,239
KH	11,921	20,893	23,566	24,436	27,809	18,937	13,429	9,347
Ka	84,540	58,47	58,904	60,955	76,52	44,057	30,018	31,436
n	16,658	16,184	16,777	7,341	22,23	14,875	13,490	10,663

Resulta llamativa la variación de los valores de AL, es decir, los correspondientes a la concentración de sitios específicos de adsorción, los cuales tienen especial relevancia en la región donde la actividad de agua es inferior al 0,1 (Gouanvé y col. 2007). Así, en esa región se realiza el ajuste a la ecuación de Langmuir y se puede obtener información acerca del mayor o menor carácter hidrofílico de las muestras. En este caso particular, para tres de los biohíbridos CNF-SEP con un menor contenido en sepiolita (1, 2 y 10%), se obtienen valores negativos del parámetro AL, lo que confirma que estas muestras presentan un comportamiento diferente al mostrado por sus componentes por separado, como puede apreciarse en la isoterma de adsorción.

Del mismo modo se realizó el ajuste de las isothermas obtenidas para la adsorción de agua en películas de biohíbridos preparados con el hidrogel CNF14, mostrándose los parámetros obtenidos en la Tabla 3.8. En la Figura 3.25, se muestran también a título de ejemplo algunas de las isothermas experimentales y los ajustes realizados para la obtención de esos parámetros. Las isothermas de adsorción de agua a 26 °C de las películas de biohíbridos CNF-SEP preparados con CNF14 se muestran en la Figura 3.23 a. En este caso los biohíbridos están preparados con CNF cuyas fibras tienen un mayor contenido en grupos carboxilo, lo que se traduce en una mayor carga en su superficie. En este caso se observa un aumento de la hidrofilia como consecuencia de la incorporación de sepiolita en el biohíbrido, que resulta evidente desde concentraciones más pequeñas de ésta (Figura 3.25 a). Este comportamiento diferente frente a la adsorción de agua de los materiales híbridos en función del grado de oxidación de las nanofibras de celulosa, podría estar relacionado con un efecto de la

presencia de grupos carboxilo de manera que cuando su número aumenta de alguna manera esto afecta a la manera que interaccionan entre fibras. De hecho, el comportamiento en presencia o ausencia de pequeñas cantidades de sepiolita es similar lo que hace pensar que la presencia de mayor carga negativa en las fibras de CNF impide una interacción con las fibras de sepiolita como consecuencia probablemente, de efectos de repulsiones de tipo electrostático, dado que la sepiolita también posee una carga neta negativa. En los sistemas preparados con la CNF de mayor grado de oxidación, se puede apreciar que el valor de AL es positivo (a excepción de CNF14), y aumenta a medida que aumenta el contenido de sepiolita en los materiales biohíbridos. Sin embargo, en algunas de las proporciones con menor contenido en sepiolita el valor del parámetro BL, es decir, de la constante de afinidad de agua de los sitios específicos de unión del agua, es negativa. Se podría plantear, por tanto, a la vista de los resultados del ajuste matemático, que en los sistemas preparados con CNF14 la concentración de centros específicos de adsorción es mayor, sin embargo, la afinidad por el agua es menor. En todo caso y a efectos de adsorción de agua, el hecho de que haya mayor número de centros parece compensar la menor afinidad. Si se comparan los materiales preparados a partir del hidrogel CNF14 y los preparados con el CNF5, parece claro que en este último los centros específicos muestran una mayor afinidad por el agua pero al ser menor el número de ellos, si además están parcialmente bloqueados como parece que ocurre cuando hay poca cantidad de sepiolita en el biohíbrido, da lugar a una disminución de la capacidad de adsorción de agua del material, y las isothermas muestran un comportamiento diferente al del resto de los sistemas estudiados, tal y como se ha discutido más arriba.

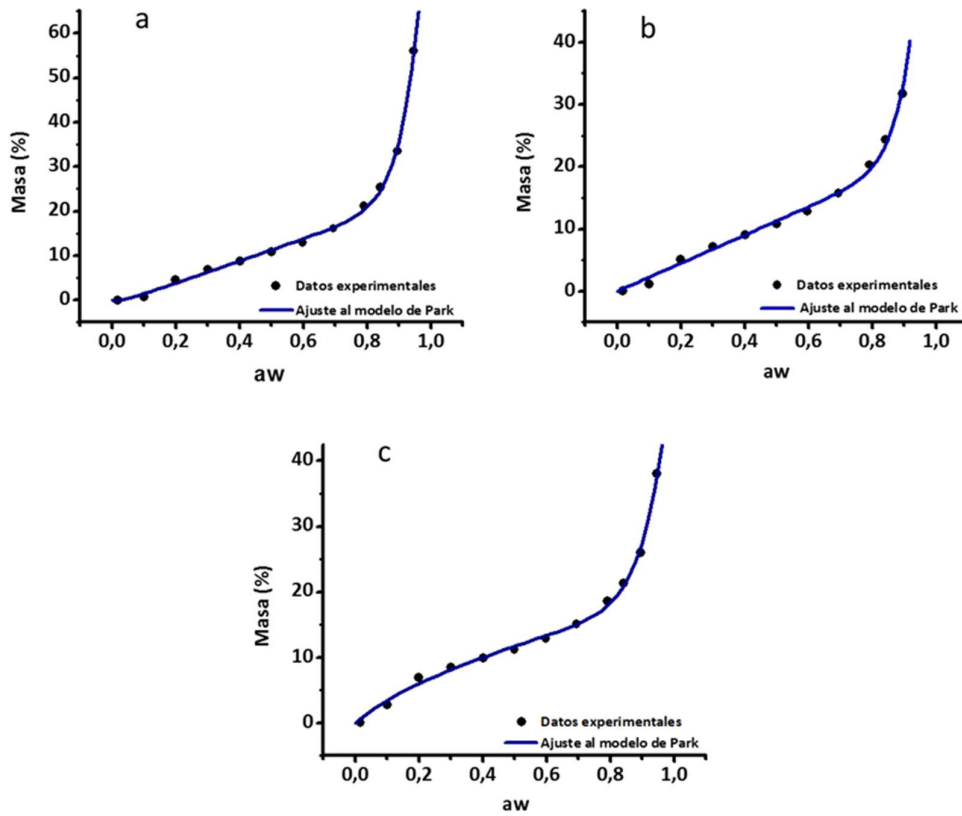


Figura 3.25. Isothermas de adsorción de agua en películas de varios biohíbridos NFC-SEP preparados a partir del hidrogel NFC14 y su ajuste al modelo de Park: a) CNF14, y los biohíbridos, b) CNF14-SEP 90-10 y c) CNF14-SEP 50-50.

Tabla 3.8. Valores de los parámetros de ajuste de las isothermas de adsorción de agua en las películas de biohíbridos CNF-SEP preparados a partir del hidrogel CNF14, a la ecuación del modelo de Park.

	Sepiolita	CNF14	CNF14-S 99-1	CNF14-S 98-2	CNF14-S 90-10	CNF14-S 80-20	CNF14-S 60-40	CNF14-S 50-50
AL	7,403	-1,032	0,107	0,0868	4,410	1,203	6,213	8,938
BL	19,711	45,642	-9,229	-9,397	-3,261	2,863	3,813	3,285
KH	11,921	25,118	23,520	23,669	22,615	21,561	15,047	12,324
Ka	84,540	82,950	83,950	85,322	80,463	72,584	48,771	41,164
n	16,658	16,107	16,124	16,349	16,67	17,181	14,958	13,550

3.1.13. Ángulo de contacto

Con objeto de corroborar el comportamiento frente a la adsorción de agua mostrado en las correspondientes isothermas de adsorción de híbridos CNF-SEP conformados como películas, se ha procedido a realizar un estudio del ángulo de contacto de una gota de agua sobre las mismas. Las medidas se han realizado en modo estático y los valores obtenidos, así como sus desviaciones, se encuentran recogidos en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9. Valores de ángulo de contacto de películas de CNF y de varios biohíbridos CNF-SEP.

Composición	Theta (M) [deg]	S
CNF	48,9	5,7
CNF-SEP 98-2	104,0	4,0
CNF-SEP 95-5	79,8	3,9
CNF-SEP 90-10	46,4	4,1
CNF-SEP 80-20	83,0	12,5
CNF-SEP 50-50	30,7	2,8

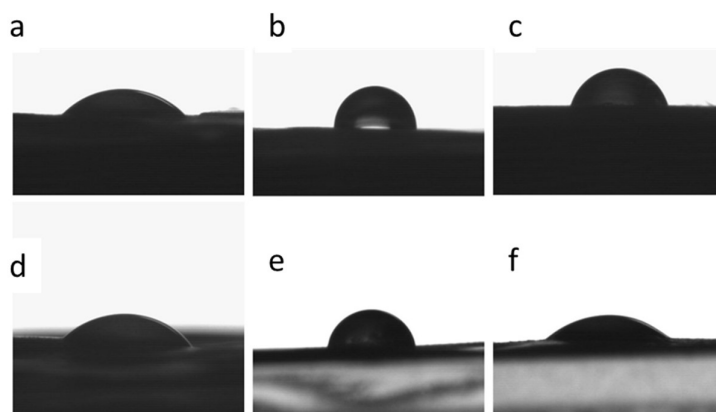


Figura 3.26. Fotos obtenidas a los 5 segundos de retirar la aguja de la microjeringa en experimentos de medida de ángulo de contacto realizado en películas de: a) CNF, y de los biohíbridos b) CNF-SEP 98-2, c) CNF-SEP 95-5, d) CNF-SEP 90-10, e) CNF-SEP 80-20 y f) CNF-SEP 50-50.

Las películas de los biohíbridos que contienen una menor cantidad de sepiolita, en concreto entre 5% y 20%, muestran un valor del ángulo de contacto en torno a 80°, bastante superior al obtenido para la muestra que contiene un 50% de sepiolita. Debe aclararse que en el caso del biohíbrido CNF-SEP 50-50 el valor obtenido es realmente una estimación, ya que la gota es rápidamente adsorbida por la muestra, tal y como sucede con las películas constituidas solo por sepiolita, poniendo de manifiesto el carácter altamente hidrofílico aportado por la presencia de este silicato. En esta tendencia general, aparecen sin embargo dos excepciones, para la composición del 10% que presenta un valor mucho menor y similar al de la CNF pura. También aparece un comportamiento que resulta especialmente llamativo en la película del híbrido que contiene un 2% de sepiolita en la que se observa un ángulo incluso superior a 90°, valor que se considera como el límite entre el carácter hidrofílico e hidrofóbico. (Förch y col. 2009; Liu y col. 2014). Estas variaciones en los valores de ángulo de contacto dan idea del diferente comportamiento de la superficie del material híbrido con respecto al observado en películas de sus componentes puros. El mojado de la superficie deja de ser favorable cuando se incorpora una pequeña cantidad de sepiolita y de hecho, a partir de la imagen mostrada en la Figura 3.26 b, parece como si la gota de agua ni siquiera mojara la superficie de la película cuyo contenido en sepiolita es en este caso solo del 2%. Estos resultados confirman en cierta medida el carácter casi hidrofóbico de algunas de las muestras, tal y como sugerían algunos de los resultados obtenidos en el estudio de adsorción de agua. Este tipo de comportamiento, sin embargo, no es extraño y en la bibliografía se encuentran descritos comportamientos similares en otros materiales híbridos, es decir donde el ángulo de contacto de películas aumenta con el contenido en arcilla, como es por ejemplo el caso de nanocomposites agar-montmorillonita (Rhim 2011).

El hecho de producir materiales con carácter hidrofóbico cuando sus dos partes constituyentes son fibras hidrofílicas, no deja de ser algo peculiar, ya que, para la modificación de este carácter en el caso de nanofibras de celulosa, se suele recurrir principalmente a modificaciones químicas de la superficie mediante la incorporación de compuestos hidrofóbicos como dímeros de alquilceteno (Yang y col. 2012) o reacciones de acetilación (Avila Ramirez y col. 2016), entre otras. Así, también se ha

reportado por ejemplo la posibilidad de introducir modificaciones de la rugosidad de su superficie, como las que se describen en el trabajo de Song y Rojas (Song y Rojas 2013), en las que se proponen dos vías con objeto de conseguir super-hidrofobicidad. Así, estos autores proponen para ello introducir rugosidad mediante: a) el recubrimiento del sustrato celulósico por incorporación de compuestos químicos, generación de recubrimientos porosos por procedimientos sol-gel, depósito de nanopartículas (por ejemplo, óxidos metálicos, minerales y polímeros) o por deposición química en fase vapor; y b) regeneración o fragmentación de materiales celulósicos como *electrospinning* y *electrospraying*, el uso de nanocristales de celulosa o nanofibras, o empleo de compuestos de celulosa. Wu y colaboradores (Wu y col. 2014) describieron como a partir del ensamblaje de nanofibras de celulosa con arcillas de tipo laminar (montmorillonita y saponita) es posible obtener un composite que presenta mayor ángulo de contacto que cada uno sus componentes por separado, asociando esta propiedad a la rugosidad de la superficie que presenta el material composite, lo que parece concordar con los resultados obtenidos en el presente estudio empleando sepiolita.

Las razones por las que los biohíbridos preparados a partir de dos especies hidrofílicas, como son en este caso nanofibras de celulosa y de sepiolita, permitan obtener un material hidrofóbico no están claras. Por un lado, puede ocurrir que en el ensamblado de ambas se produzca el bloqueo de sitios específicos de unión del agua, tal y como se ha descrito en el apartado 3.2.10, como consecuencia de la interacción entre ambos tipos de fibras sea a través de esos centros específicos de adsorción. También puede ocurrir que el procesado llevado a cabo para el conformado en forma de películas origine una rugosidad específica en la que la presencia de aire atrapado en la interfase sólido/líquido debido al entrecruzamiento de fibras, pueda definir protuberancias interfibrilares que originarían el cambio de humectabilidad del material resultante (Wu y col. 2014). De hecho, tal y como se discute en el apartado de microscopía confocal (apartado 3.2.4), se ha comprobado que algunos cambios en la composición pueden generar cambios en la rugosidad de la superficie de las películas resultantes. Sin embargo, esta explicación no parece la más plausible puesto que han sido las películas menos rugosas, las del biohíbrido que contiene un 2% de sepiolita, las que muestra un

mayor ángulo de contacto, lo que parece apuntar por tanto a que el comportamiento aquí observado puede ser mayormente consecuencia de una organización singular de los dos tipos de fibras en el biohíbrido.

3.1.14. Análisis Térmico

Se ha llevado a cabo una evaluación de la estabilidad térmica de los biohíbridos preparados al objeto de evaluar cómo afecta la posible interacción entre ambos tipos de fibras a las propiedades térmicas. Para ello se han estudiado tanto el comportamiento de los dos componentes puros, en este caso la nanocelulosa CNF y la sepiolita, así como varios materiales biohíbridos CNF-SEP con distintas proporciones de ellos. En la Figura 3.27 se muestran los termogramas correspondientes al análisis termogravimétrico (TG) y al análisis térmico diferencial, obtenidos durante el calentamiento de las muestras bajo un flujo de aire. En la curva TG correspondiente a la CNF (Figura 3.27 a) se puede observar como en torno a 150 °C se produce una pérdida de masa del 7,7% asociada a la eliminación de agua fisisorbida en la película. Entre 200 y 370°C se produce una pérdida de masa del 57,3%, asociada a una etapa previa de oxidación y degradación de las cadenas de celulosa. En la siguiente etapa, que transcurre en el intervalo de temperaturas que va de 382 a 483°C, se produce la degradación completa del polímero en un proceso que está asociado a una pérdida de masa del 37,0%. La correspondiente curva del ATD muestra que este último proceso está acompañado de una fuerte señal exotérmica a 446 °C, lo que confirma que esta última degradación corresponde al proceso de combustión de la CNF (Shafizadeh y Bradbury 1979). En general, la presencia de sepiolita en los biohíbridos CNF-SEP no parece mostrar grandes diferencias en el perfil de las curvas TG y ATD, dándose el mismo tipo de procesos en intervalos de temperatura próximos, si bien puede que entre 200 y 500 °C parte de la pérdida de masa esté asociada a la eliminación de moléculas de agua zeolítica y coordinada presentes en la sepiolita (Shuali y col. 1990). El efecto asociado a la deshidroxilación de la sepiolita, efecto exotérmico hacia 840 °C (Figura 3.27 f), es solamente detectado en el biohíbrido con mayor contenido en sepiolita (Figura 3.27 e). Un análisis comparativo de los termogramas de los distintos materiales biohíbridos muestra que el proceso de combustión de la CNF se favorece

cuando aumenta el contenido de sepiolita en el mismo. Así, mientras que para el biohíbrido con un 20% en sepiolita el pico exotérmico asociado a la combustión aparece a una temperatura similar a la de la CNF, dicha temperatura desciende a 420 °C y 415 °C para los biohíbridos con un 40 y un 50% en sepiolita, respectivamente. Para contenidos menores al 20% la temperatura se mantiene o incluso puede ser ligeramente superior como pasa con el biohíbrido CNT-SEP 90-10 donde el máximo del evento exotérmico se centra a 455 °C (Figura 3.27 b). Estas observaciones indican claramente un efecto de la presencia de sepiolita en el proceso de degradación de la CNF, debido probablemente a la existencia de interacciones entre ambos tipos de fibras, como también señalan los resultados obtenidos mediante otras técnicas físico-químicas de caracterización utilizadas en este trabajo. Cuando el contenido en sepiolita es pequeño, como por ejemplo en el biohíbrido conteniendo un 10% de sepiolita, es probable que la interacción entre ambos tipos de fibras sea muy efectiva y el proceso de degradación se retrase ligeramente. A medida que se incrementa el contenido en silicato en el biohíbrido este puede tener un papel mayor en el proceso, probablemente favoreciendo una mayor desagregación y desorganización de la CNF entre fibras del silicato lo que posibilita un mejor acceso del oxígeno para provocar la combustión.

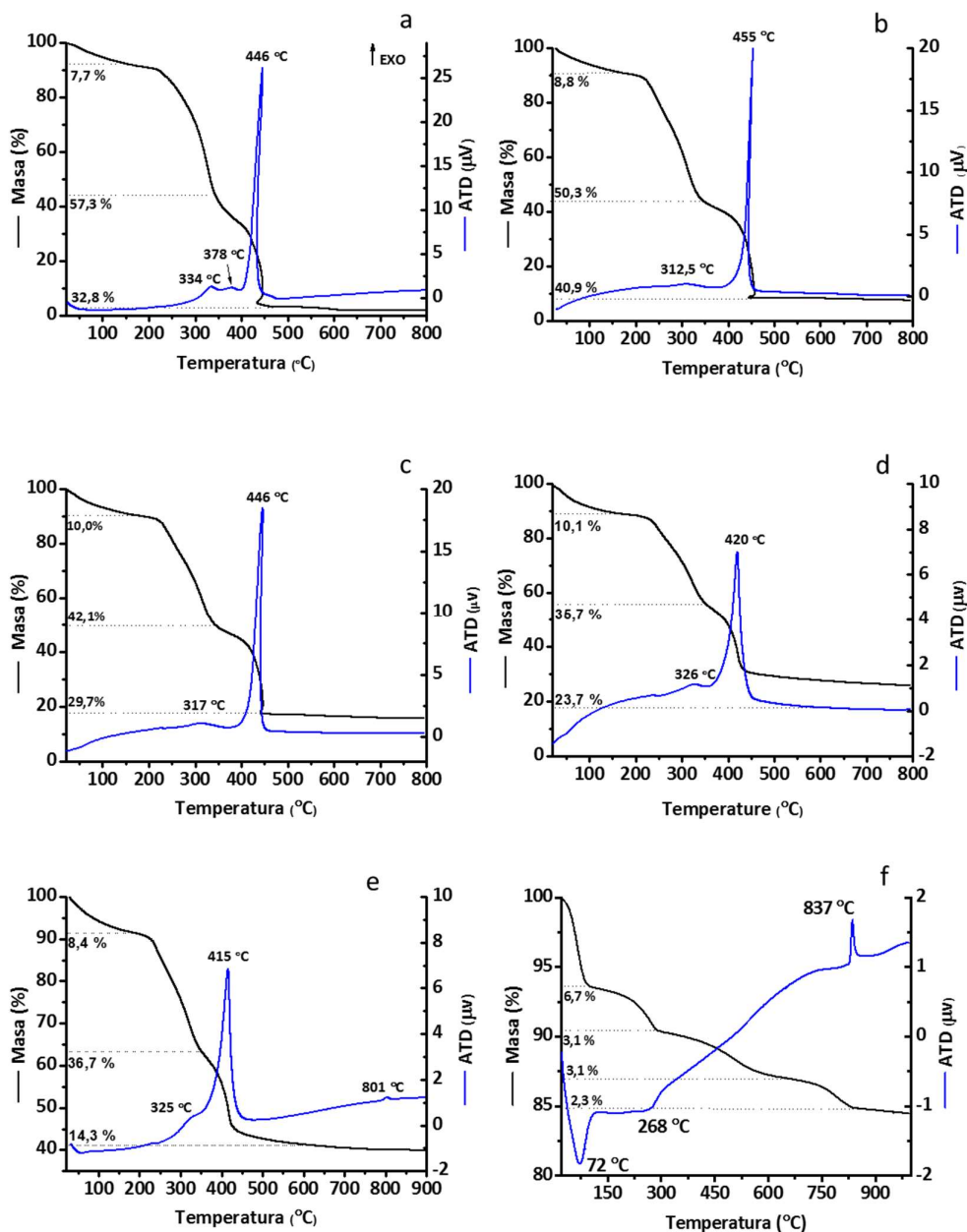


Figura 3.27. Curvas de análisis termogravimétrico (negro) y de análisis térmico diferencial (azul) obtenidas en calentamiento bajo flujo de aire de muestras conformadas como películas de a) CNF, y de los biohíbridos b) CNF-SEP 90-10, c) CNF-SEP 80-20, d) CNF-SEP 60-40, y e) CNF-SEP 50-50, y f) sepiolita en polvo.

3.1.15. Propiedades mecánicas

Dado el interés de los llamados *nanopapeles* basados en nanofibras de celulosa se ha estudiado el posible efecto sobre las propiedades mecánicas de películas de CNF cuando se ensamblan a fibras de sepiolita. Así, se han realizado ensayos de tracción, a partir de los cuales se han obtenido los valores del módulo de Young y el porcentaje de elongación a la rotura de las películas biohíbridas, mostrándose en la Tabla 3.10 los resultados obtenidos. Las películas constituidas exclusivamente por sepiolita muestran valores de elongación a la rotura bastante bajos, de un 0,8 %, lo que indica que, por sí solas, las películas de este silicato son frágiles y quebradizas. Por el contrario, las películas preparadas con CNF presentan un mayor porcentaje de elongación a la rotura, de casi 20 %, lo cual indica una mayor flexibilidad para este material. Sin embargo, para ambos materiales el módulo de Young es bastante similar, con valores de 1,4 GPa para la sepiolita y de 1,1 GPa para la película de CNF. Estudios recientes han mostrado que estos valores en el caso de la sepiolita pueden variar enormemente dependiendo del grado de agregación de las nanofibras, desde 8 GPa para fibras de sepiolita elementales, hasta 0.4 GPa asociadas en bloques monolíticos (Fernandes y col. 2014). Cuando se comparan los valores obtenidos para la película de CNF con los descritos en la bibliografía debe señalarse que algunos autores han descrito valores de módulo de Young más elevados para materiales basados en este tipo de fibras, como, por ejemplo en el trabajo de Qing y col. (Qing y col. 2012), sin embargo, es relevante señalar que en ocasiones las películas pueden estar constituidas por nanofibras de celulosa que han sido sometidas a cierto tipo de tratamientos. Así, en el ejemplo señalado han sido tratadas con fenol/ formaldehído, llegándose a obtener un valor del módulo elástico (o módulo de Young) de 33 GPa. En nuestro caso, aparte de que no se han incorporado otros componentes o aditivos, es relevante señalar que las dispersiones de CNF han sido tratadas para su homogenización con un sistema de dispersión bajo alta cizalla seguido de irradiación con ultrasonidos (sección 3.1), lo que provoca roturas de las fibras, hecho que sin duda debe afectar a las propiedades mecánicas de los materiales resultantes. Así, la presencia en las películas de fibras más pequeñas origina menores valores de módulo de Young. Esta interpretación es coherente con otras observaciones, como por ejemplo, el hecho de que el grado de polimerización de las nanofibras influye en las propiedades mecánicas tal y como se ha

observado en películas obtenidas con nanofibras de alto grado de polimerización (por encima de 1000) las cuales exhiben mayor resistencia y dureza que películas obtenidas con fibras de bajo grado de polimerización (Henriksson y col. 2008; Saito y col. 2009).

En las películas de los materiales biohíbridos a se observa que a medida que aumenta el contenido en sepiolita se produce un aumento en el valor del módulo de Young, que puede llegar a triplicarse con respecto al de la CNF cuando el contenido en sepiolita es del 20% (3,4 GPa). En todo caso la presencia de sepiolita en los biohíbridos produce una disminución del valor de la elongación a la rotura, efecto que es más importante conforme aumenta el contenido en sepiolita. Aunque ya se ha comentado que estos materiales no deben de ser examinados como nanocomposites clásicos, este efecto es similar al bien conocido provocado en estos últimos por la adición de refuerzos rígidos a matrices poliméricas, lo que se traduce en que a medida que aumenta el contenido de la fase más rígida el material resultante se vuelve también más rígido debido a que se restringe el movimiento de las cadenas poliméricas (Haafiz y col. 2015). En nuestro caso, a bajas concentraciones de sepiolita esta se puede dispersar fácilmente favoreciéndose las interacciones interfaciales entre las dos fibras y el efecto no es demasiado significativo, pero cuando la cantidad de sepiolita es mayor es probable que en algún momento se produzca un efecto importante de interacciones entre fibras de sepiolita y que este sea más importante que el existente entre fibras de CNF y SEP. Esto podría afectar de manera importante a las propiedades mecánicas, explicándose así la variación no lineal observada en los valores tanto de módulo de Young como de elongación a la rotura con el contenido en compuesto inorgánico (Abdollahi y col. 2013).

Tabla 3.10. Valores del módulo de Young y porcentaje de elongación a la rotura de películas de biohíbridos CNF-SEP preparados a partir del hidrogel precursor, así como de películas preparadas con cada uno de sus componentes puros. Estos valores corresponden al valor medio de al menos tres medidas por cada material.

	Contenido en sepiolita (%)	Módulo de Young (GPa)	Elongación a la rotura (%)
CNF	0	1,1 ± 0,2	19,5 ± 4,7
CNF-S 90-10	10	1,9 ± 0,4	8,5 ± 4,3
CNF-S 80-20	20	3,4 ± 0,6	4,3 ± 0,4
CNF-S 60-40	40	2,7 ± 0,5	6,3 ± 0,4
CNF-S 50-50	50	2,3 ± 0,2	6,2 ± 0,5
Sepiolita	100	1,4 ± 0,4	0,8 ± 0,1

3.1.16. Propiedades de barrera al paso de luz

Una de las características más relevantes de las películas preparadas a partir de CNF en relación con la celulosa en su forma usual es la posibilidad de que sean prácticamente transparentes a la luz visible, lo que las hace muy interesantes para distintas aplicaciones. Así, se ha realizado un estudio de la transmisión de radiación UV-Visible a través de películas de diversos biohíbridos CNF-SEP preparados empleando hidrogeles de los dos tipos de CNF de que disponíamos en este trabajo, es decir CNF5 y CNF14, descritas en el apartado 2.2.1. En la Figura 3.28 se recogen las curvas de transmitancia en distintas zonas del espectro UV-vis obtenidos para películas de ambos sistemas. Se aprecia la existencia de diferencias relevantes en los valores de transmitancia entre las películas de CNF5 y CNF14 puras, con valores por ejemplo de 4,7% a 600 nm en la zona del visible para la película de CNF5 (Figura 3.28 a) frente a un valor de 87% en el caso de CNF14 (Figura 3.28 b). Para explicar este hecho debe tenerse en cuenta que la diferencia entre ambas nanocelulosas es el grado de oxidación de la celulosa, el cual es mayor en la CNF14 ya que en el tratamiento se utilizó una mayor cantidad de NaClO durante la etapa de tratamiento con TEMPO. Así, la cantidad de grupos COO⁻ es 1,279 mmol/g en la CNF14 por 0,517 mmol/g en la CNF5 (ver capítulo de Materiales y Métodos apartado 2.2.1). El grado de oxidación favorece el proceso posterior de desfibración, de modo que en principio con un mayor grado de

oxidación, se obtienen fibras de CNF más dispersas o desfibradas. Si se tiene en cuenta que para un mayor diámetro de fibra el grado de dispersión de la luz es mayor, es claro porque las películas de CNF presentan menor transparencia y este efecto también ocurrirá en las películas preparadas con los biohíbridos preparados con CNF5 en relación a los preparados con CNF14. Cuando aumenta el contenido en sepiolita en los biohíbridos la transmitancia de la película se ve reducida de forma considerable tanto en la región UV y la visible, llegándose a alcanzar valores del 0,2% el biohíbrido con un contenido del 50%. Este efecto puede ocurrir tanto en las películas de biohíbridos preparados con CNF como con CNF14, pero hay que tener en cuenta que, en estos últimos al ser más transparentes, la reducción de la transmitancia no se ve tan afectada, si bien, de nuevo en el caso del biohíbrido con un contenido del 50% en sepiolita la transmitancia es tan sólo del 1,42%. El hecho de que estos materiales biohíbridos muestren un claro impedimento al paso de luz UV, los hace especialmente interesantes en posibles aplicaciones relacionadas con su uso como bioplásticos por ejemplo en el área del envasado y la protección de alimentos (Weber y col. 2002; Alcantara y col. 2016). Además, el hecho de que la sepiolita sea un sólido poroso capaz de atrapar moléculas diversas (Ruiz-Hitzky 2001) incluidos colorantes como ocurre en denominado azul Maya (Sanchez del Rio y col. 2006), permitirá en futuros estudios introducir propiedades ópticas deseables para aplicaciones más específicas de estos materiales híbridos así funcionalizados.

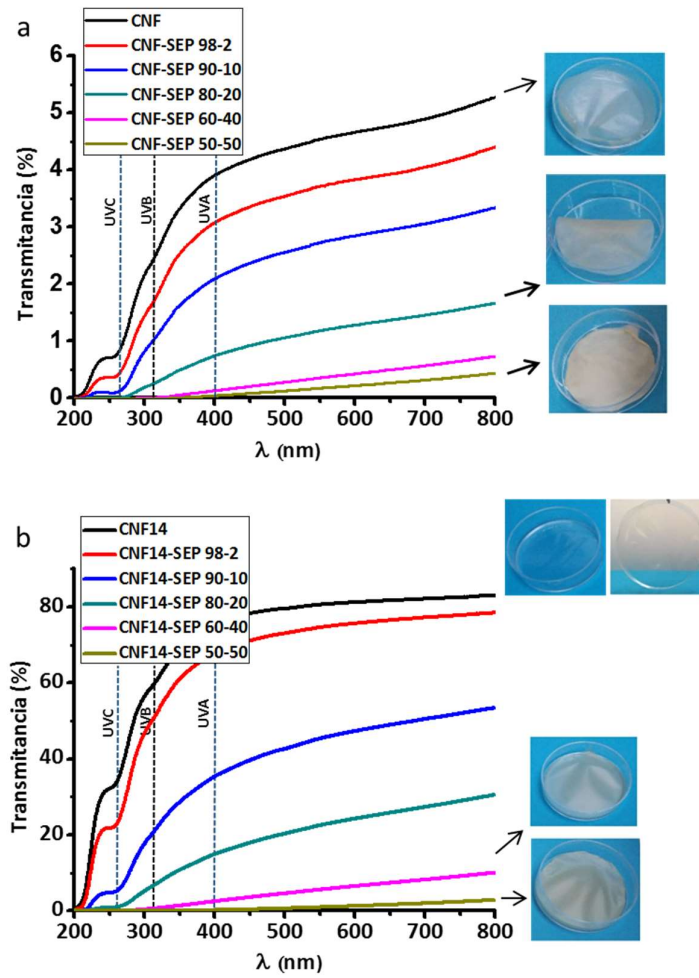


Figura 3.28. Curvas de la variación de transmitancia a la luz en el rango de longitud de onda comprendido entre 200-800 nm de películas de biohíbridos CNF-SEP con diferente contenido en sepiolita y nanocelulosas con diferente grado de oxidación: a) CNF5 y b) CNF14.

3.2. Conclusiones

En el presente capítulo se ha llevado a cabo el estudio del ensamblado de nanofibras de celulosa y sepiolita lográndose preparar un nuevo material bionanocomposite heterofibroso. En este estudio se ha podido analizar el proceso de dispersión e integración de ambos tipos de fibras, comprobándose que la aplicación del tratamiento sonomecánico juega un papel muy importante en la integración de las fibras de diferente naturaleza. Se han preparado diversos materiales biohíbridos con diferentes proporciones de ambos elementos fibrosos, habiéndose observado propiedades interesantes que parecen estar relacionadas con la proporción de cada uno de los elementos constituyentes, y la disposición espacial de los mismos durante el proceso de secado. Mediante las diferentes técnicas de microscopía se ha podido observar la homogeneidad del material, la morfología de las diferentes fibras y la integración de la fibra inorgánica en la orgánica, en parte gracias a la fluorescencia intrínseca de la primera (microscopía confocal). La interacción entre ambos tipos de fibras ha sido corroborada principalmente mediante las técnicas espectroscópicas FTIR y XPS. Las medidas reológicas han aportado información sobre la posible orientación de las fibras del silicato como consecuencia de la presencia de las fibras de CNF en los hidrogeles, en relación con la orientación que adquieren durante el proceso de secado. Tanto la difracción de rayos X como el estudio del dicroísmo en los espectros de FTIR, aportan información sobre la existencia de cierta predominancia en la disposición de unas fibras con respecto a las otras. La singular interacción interfibrilar, ha permitido obtener materiales hidrófobos a partir de constituyentes de naturaleza hidrófila, resultado que ha sido confirmado mediante la obtención de la isoterma de adsorción de agua y medidas de ángulo de contacto de las diferentes películas biohíbridas CNF-SEP. Además, se ha podido comprobar como la incorporación de las fibras de sepiolita en el gel de CNF para la obtención de las películas biohíbridas, permite obtener un material final con una superficie específica mayor, que la que puede mostrar una película constituida solo de CNF. Las medidas de transmisión de radiación UV-Visible han demostrado que el material biohíbrido CNF-SEP, inhibe la transmisión de la radiación UV, por lo que estos materiales, podrían ser susceptibles de ser empleados

en la composición de materiales que eviten el paso de esta radiación, ya sea en cosmética o en la preparación de envases.

4. FUNCIONALIZACIÓN DE BIOHÍBRIDOS BASADOS EN NANOFIBRAS DE CELULOSA Y SEPIOLITA

4.1. Introducción

Es bien conocido que las nanopartículas son termodinámicamente inestables, mostrando gran tendencia a agregarse para generar el material masivo, por lo que existen diferentes estrategias orientadas a favorecer su dispersión (diferentes estrategias orientadas a favorecer su dispersión, por ejemplo dotándolas de recubrimientos específicos para mantenerlas separadas, inmovilizándolas sobre soportes o diferentes tipos de recubrimientos). En este capítulo se aborda el estudio de la dispersión de varios tipos de nanopartículas en el peculiar entramado de fibras presentes en los geles híbridos de CNF-SEP, dado que este proceso puede favorecer su dispersión y ensamblado a las mismas que así actuarían como soporte para su estabilización. Entre los diferentes tipos de nanopartículas que pueden ser incorporados al material híbrido CNF-SEP se han elegido dos óxidos metálicos y nanotubos de carbono multipared (MWCNT), todos ellos dotados de propiedades específicas a fin de lograr materiales híbridos que además de contar con propiedades de interés como consecuencia de efectos sinérgicos entre ambos tipos de fibras, puedan además incorporar una funcionalidad añadida. Estas serían en concreto: i) conductividad eléctrica, en el caso de incorporar nanotubos de carbono; ii) propiedades magnéticas, si se incorporan nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4); III) propiedades fotocatalíticas, incorporando por ejemplo nanopartículas de óxido de zinc. Así, en este capítulo se describe la preparación y caracterización físico-química de nuevos materiales híbridos funcionales basados en CNF-SEP que además incorporan nanopartículas del tipo de los MWCNT, Fe_3O_4 o ZnO , así como la evaluación de propiedades relevantes con vista a algunas de sus posibles aplicaciones.

4.2. Biohíbridos CNF-SEP que incorporan nanotubos de carbono

4.2.1. Síntesis y caracterización

Al igual que sucede en la preparación de los biohíbridos CNF-SEP, al adicionar nanotubos de carbono a la suspensión que contiene CNF y sepiolita es necesario optimizar el protocolo de dispersión, ya que el grado de homogeneidad e integración de los diferentes componentes del sistema que pueda alcanzarse, va a estar

controlado por la gran tendencia a auto-agregarse que tienen los mismos. En el presente caso además debemos considerar algunas particularidades inherentes a la naturaleza de la nanopartícula que concretamente se quiere incorporar. Desde el descubrimiento de los nanotubos de carbono y tras el estudio de sus propiedades se ha buscado su aplicación en multitud de áreas. Sin embargo, además de su elevado coste de producción, debe tenerse en cuenta que su manipulación es algo compleja debido a su insolubilidad en los disolventes más comunes (Georgakilas y col. 2002; Tasis y col. 2006). Así, su elevada relación de aspecto y flexibilidad, junto con las fuerzas de van der Waals que se establecen entre nanotubos, provocan que estos se encuentren enredados formando verdaderas madejas o *bundles* en inglés. Por ello, en los últimos años un considerable número de investigaciones se ha centrado en conseguir procedimientos que permitan una fácil dispersión de estos nanotubos, lo cual permite abrir camino a multitud de aplicaciones, incluyendo entre ellas la preparación de composites funcionales en los que prima la conductividad eléctrica que asocian estos nanomateriales.

Los nanotubos de carbono usados en la funcionalización del material CNF-SEP, han sido del tipo MWCNT que no presentan ningún tipo de modificación química, por lo que muestran una gran tendencia a agregarse cuando se encuentran en dispersiones acuosas debido a la hidrofobicidad de su superficie, tal y como se ha comentado en el párrafo anterior (Pan y Xing 2008). Los métodos más habituales que permite estabilizar una dispersión de nanotubos de carbono son su funcionalización química y la adición de surfactantes o su inclusión en sistemas poliméricos. Sin embargo, estos métodos presentan algunas desventajas: por ejemplo, en la preparación de composites la adición de surfactantes puede generar posteriormente una menor adhesión a la matriz polimérica. Por otro lado, la modificación química de los nanotubos de carbono puede perturbar la estructura electrónica y reducir la conductividad eléctrica de los mismos; igualmente la adición de polímeros o surfactantes para recubrirlos puede alterar el contacto entre los nanotubos, afectando a la percolación relacionada con el paso de electrones de uno a otro (Moniruzzaman y Winey 2006; Al-Hamadani y col. 2015). Como alternativa a estos procesos de modificación, Fernandes y Ruiz-Hitzky (Fernandes y Ruiz-Hitzky 2014) propusieron una metodología enfocada a la adecuada

dispersión de MWCNT en medio acuoso, empleando irradiación con ultrasonidos y sepiolita como co-dispersante. El mecanismo de actuación de la sepiolita en el proceso de dispersión se asocia a una estabilización estérica, debido a que su presencia limita la tendencia natural de los MWCNT a recombinarse una vez dispersados bajo la acción de los ultrasonidos, lo que permite mantenerlos estables en la suspensión acuosa. Para conseguir este tipo de suspensiones es necesario aplicar una determinada energía con ultrasonidos, lo que provoca una separación temporal de los nanotubos mientras las fibras de sepiolita presentes en la suspensión se dispersan entre ellos pudiendo quedar en interacción con los mismos, dando lugar a la separación estérica impidiendo que los MWCNT se agreguen de nuevo. Posteriormente se ha aplicado esta metodología a la dispersión de sólidos tipo grafénico como los denominados en inglés *graphite or graphene nanoplatelets*, G nanopartículas (“nanoplaquetas de grafito o de grafeno”) logrando materiales derivados de sepiolita con elevada conductividad de interés en el desarrollo de nanocomposites conductores (Ruiz-Hitzky y col. 2016).

Dado que el proceso se realiza en medio acuoso y el co-dispersante es sepiolita, se decidió utilizar esta metodología en la preparación de biohíbridos CNF-SEP-MWCNT. Tal y como se describe en la sección 2.2.2, en primer lugar se preparó una dispersión de CNF al 0,5% m/v en agua, homogenizándola con agitación bajo alta cizalla seguida de un tratamiento con ultrasonidos. Esta dispersión es combinada con una suspensión de MWCNT y sepiolita, preparada siguiendo la metodología propuesta por Fernandes y Ruiz-Hitzky (Fernandes y Ruiz-Hitzky 2014), agitándola en un vortex para procurar la integración de ambas suspensiones acuosas. A continuación, el sistema se sometió a un tratamiento bajo ultrasonidos con la intención de completar la integración de los tres tipos de fibras tratando de impedir procesos de auto-agregación. Como se ha visto en el capítulo 3, la aplicación de US permite la ruptura de los enlaces de hidrógeno que tienden a formar las fibras de celulosa entre sí, favoreciendo su combinación con la sepiolita, pero ahora además se trata de favorecer ese proceso de dispersión en presencia de los MWCNT de manera que estos puedan quedar también integrados a ambos tipos de fibras. Para lograr que en esta dispersión se integren de forma homogénea los tres componentes se requiere la aplicación de energías de ultrasonidos más intensas que las empleadas para alcanzar sólo la dispersión de las fibras de

sepiolita y de nanocelulosa. A modo de ejemplo, en la Figura 4.1 puede apreciarse el aspecto de una dispersión acuosa de CNF-SEP-MWCNT 50-50 (1,96), donde el 1,96 indica el contenido de MWCNT expresado en % m/m relativo a la masa total del sistema, tratada con 5 kJ, donde se puede observar que es homogénea. En experiencias realizadas con irradiación de 1 KJ se aprecia la formación de pequeños agregados de nanotubos de carbono que impregnan las paredes del recipiente. A partir de estas suspensiones homogéneas es posible preparar películas auto-soportadas en las que los tres tipos de nanopartículas se encuentran integradas (Figura 4.1).

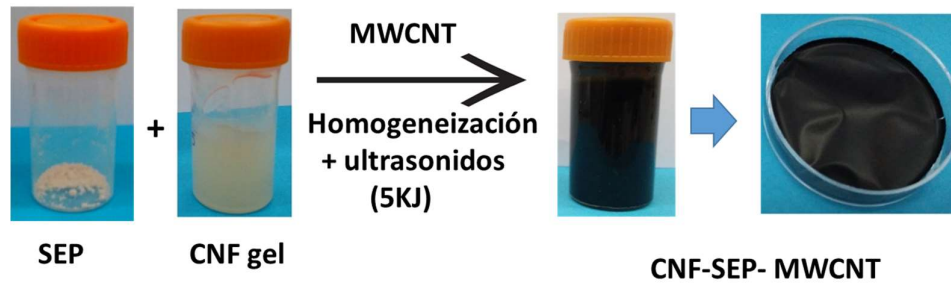


Figura 4.1.) esquema del proceso de preparación del biohíbrido CNF-SEP-MWCNT 50-50 (1,96%) m/m y aspecto de la película obtenida tras el secado de la suspensión intermedia.

4.2.1.1. FE-SEM

En la Figura 4.2 se muestran las imágenes observadas por FE-SEM de la superficie de una película del biohíbrido CNF-SEP-MWCNT 50-50 (4%), utilizando distintos tipos de detectores del microscopio. En la Figura 4.2 a, que ha sido obtenida empleando un detector MD (*in lens mirror high energy electron detector*), se pueden apreciar como las fibras de CNF y sepiolita forman un entramado homogéneo. Sin embargo, es muy difícil distinguir donde se encuentran los MWCNT pese a haber utilizado una energía de los electrones de tan sólo 2 kV. La imagen de la Figura 4.2 b corresponde a la misma zona de la película, pero se ha obtenido con el detector TLD (*in-lens detector*) en este caso de electrones secundarios, y así es posible distinguir los MWCNT que aparecen como pequeños hilos brillantes dispersos entre la maraña de fibras de CNF y SEP. En la Figura 4.2 c se muestra una imagen general del aspecto de la superficie de la película

del biohíbrido, donde puede verse claramente la alta homogeneidad y escasa rugosidad de la misma, y en la Figura 4.2 d se muestran los mapas de la distribución de los elementos C, O, Si y Mg correspondientes a la misma, determinados por la técnica EDX, donde se confirma la homogeneidad en la distribución de los mismos a lo largo del material resultante.

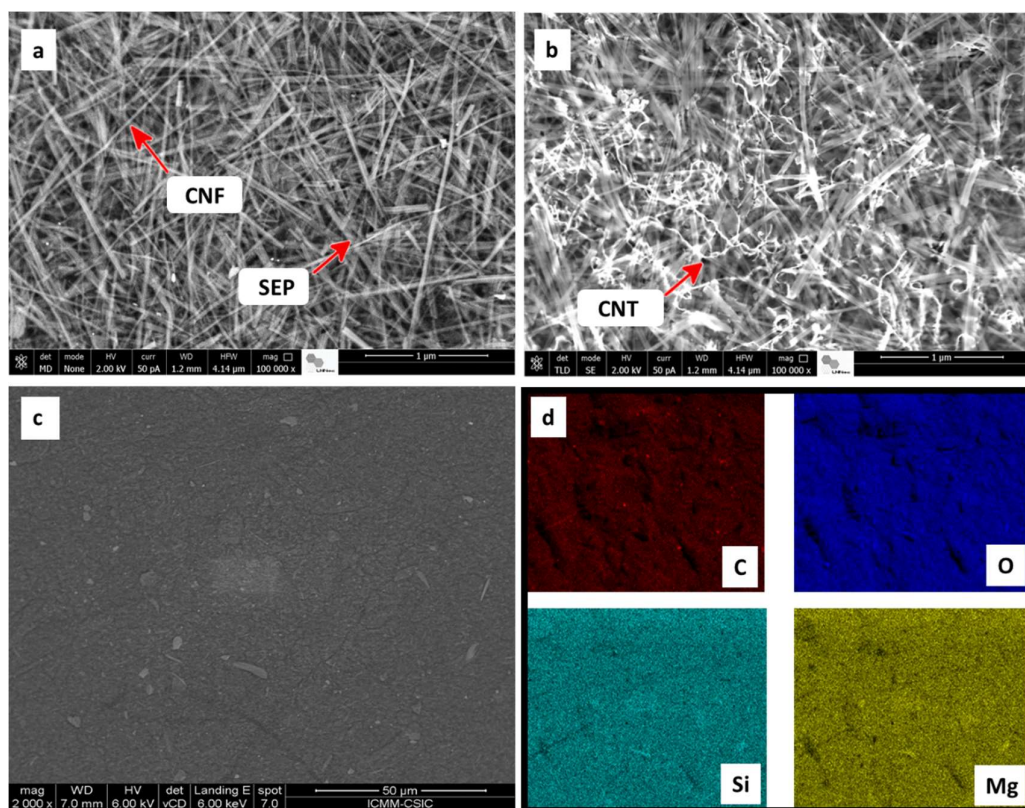


Figura 4.2. Imágenes FE-SEM de una película del biohíbrido CNF-SEP-MWCNT 50-50, 4% MWCNT obtenidas con diferentes detectores a) MD, b) TLD y c) vCD. En d) se recoge un mapa de la distribución de distintos elementos (C, O, Si y Mg) correspondiente a la superficie mostrada en la imagen c) obtenida en este caso con un detector de EDX.

4.2.1.2. TEM

La morfología de los sistemas biohíbridos CNF-SEP-MWCNT ha sido estudiada además mediante TEM para lo cual ha sido preciso diluir los hidrogeles preparados, tal y como se indica en el apartado 2.4.1.b. En la Figura 4.3 se muestran algunas de las imágenes del biohíbrido CNF-SEP-MWCNT 50-50 (4%) obtenidas a distintos aumentos,

que, si bien no son representativas del material procesado final, sí dan una idea de cómo se asocian e interactúan los distintos componentes cuando se encuentran en suspensión. Es relevante señalar que existe un grado de interconectividad elevado entre los distintos tipos de nanopartículas y que los MWCNT al ser altamente flexibles sirven de punto de unión entre ellos y entre fibras de los otros dos componentes, lo que puede procurar aceptables propiedades de conductividad eléctrica al material final procesado.

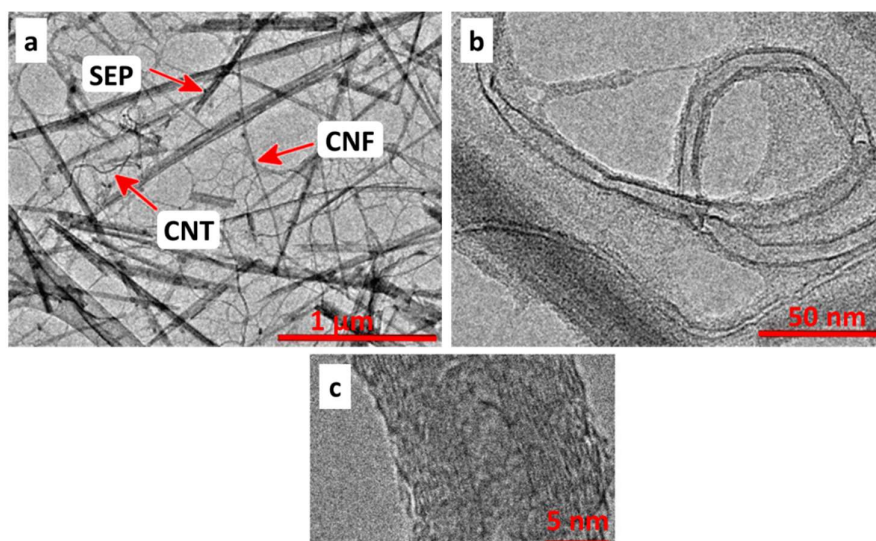


Figura 4.3. Imágenes TEM del biohíbrido CNF-SEP-MWCNT 50-50 (4%) a diferentes aumentos.

4.2.1.3. Isotermas de adsorción de agua

Se han obtenido las isotermas de adsorción de agua en materiales conformados como películas del biohíbrido CNF-SEP 50-50 que contienen distintas cantidades de MWCNT (Figura 4.4). A partir de ellas se aprecia cómo al aumentar el contenido de MWCNT en el biohíbrido la cantidad de agua adsorbida disminuye prácticamente para todas las humedades relativas, lo que en principio sería esperable, pudiendo ser atribuido al carácter hidrofóbico de los MWCNT (Pan y Xing 2008). El comportamiento más extraño es el observado para el biohíbrido con menor contenido en MWCNT

(0,5%), donde para bajas humedades relativas se produce un muy pequeño cambio de masa, menor del esperado, sobre todo teniendo en cuenta la pequeña cantidad de nanotubos incorporados. Se hace necesario realizar un estudio más detallado, para entender este efecto que es similar al observado cuando se prepara el biohíbrido con cantidades de sepiolita inferiores al 10%.

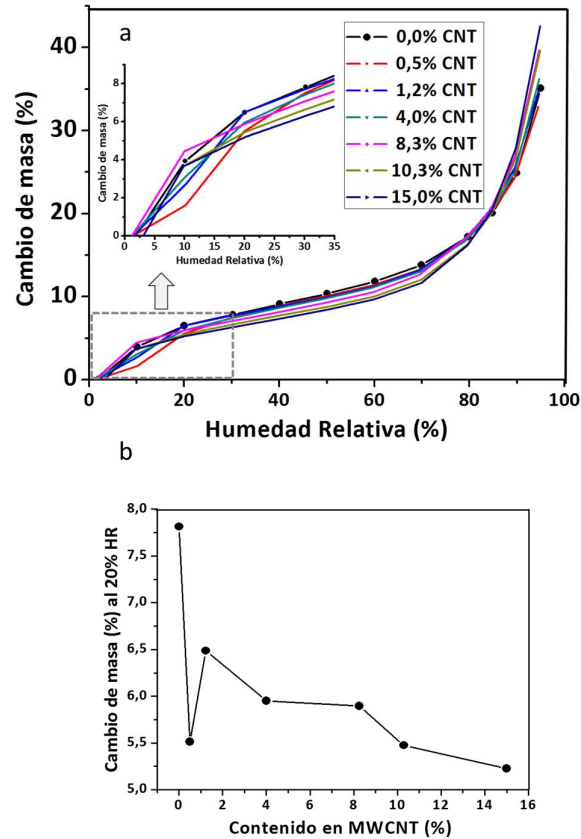


Figura 4.4. a) Isothermas de adsorción de agua correspondientes al biohíbrido CNF-SEP 50-50-MWCNT y b) cambio de masa en función del contenido de MWCNT para una humedad relativa del 20%.

4.2.1.4. Propiedades eléctricas

Como ya se ha indicado, el interés de incorporar MWCNT a los biohíbridos CNF-SEP está relacionado con la posibilidad de obtener películas de los mismos con propiedades de conductividad eléctrica. Un aspecto importante para lograr esta característica es alcanzar un compromiso entre la cantidad de MWCNT a incorporar garantizando una buena dispersabilidad de los mismos y los valores aceptables de conductividad eléctrica de los materiales resultantes. En este estudio la conductividad eléctrica de las películas de biohíbridos modificadas se ha determinado utilizando el método de las cuatro puntas (técnica de van der Pauw) (van der Pauw 1958), realizando al menos tres medidas (ver detalles en la Sección 2.4.14). Así, es posible determinar el voltaje en función de la corriente aplicada (Figura 4.6) y a partir de ahí determinar la resistencia aplicando la ley de Ohm. A partir de estos valores de resistencia y aplicando la ecuación 1 (Sección 2.4.14), se ha podido determinar la conductividad de los distintos materiales preparados. Los resultados para distintos biohíbridos se muestran en la Tabla 4.1.

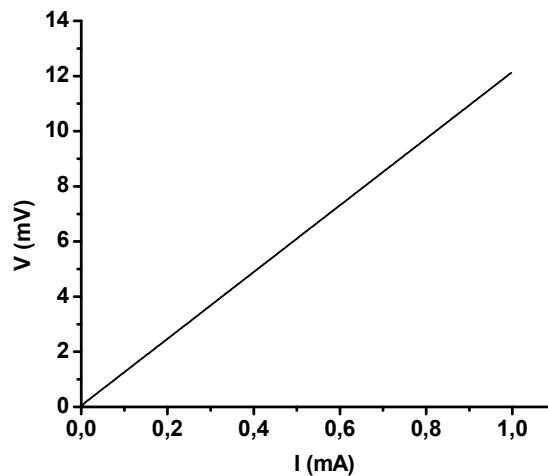


Figura 4.6. Variación del voltaje con la intensidad de corriente para el biohíbrido MWCNT-CNF-SEP 50-50 (8,25 %).

Tabla 4.1. Valores de conductividad en función del contenido en MWCNT en películas de biohíbridos MWCNT-CNF-SEP 50-50 (DER: desviación estándar relativa)

Contenido en MWCNT (%)	Conductividad (σ) $S \cdot cm^{-1}$	DER (%)
0,5	$2,76 \cdot 10^{-7}$	0,000001
1,96	0,0002	0,00004
4,3	1,16	0,0035
8,25	4,22	0,27
10,3	5,66	0,06
15,0	9,19	0,44

La representación de los valores de conductividad determinado para los diferentes biohíbridos en función del contenido de MWCNT en los mismos (Figura 4.5) muestra un comportamiento que no aumenta linealmente a partir de un cierto contenido en MWCNT. Para explicar este tipo de variaciones en el que la conductividad eléctrica de un material compuesto en el que hay un componente conductor dentro de una matriz aislante se puede aplicar la denominada *teoría de la percolación* (Stauffer y Aharony 2010). Cuando el contenido en carga conductora se va incrementando gradualmente, el compuesto pasa por una etapa de transición desde aislante a conductor en la que puede observarse como un salto en el que para muy pequeñas variaciones en la composición la conductividad eléctrica aumenta bruscamente varios órdenes de magnitud, lo que es conocido como *umbral de percolación*. Este cambio se debe a la formación de trayectorias continuas de electrones o redes de conducción. Por debajo de este valor estas trayectorias electrónicas no se dan y las propiedades eléctricas están dominadas por la matriz. Por encima de este valor el compuesto presenta conductividad eléctrica, y en la mayoría de los casos, alcanza un valor máximo de saturación a partir del cual, la conductividad no aumenta aunque se incremente el contenido en el componente conductor. La concentración del conductor debe ser superior al umbral de percolación para conseguir que el material final tenga propiedades como conductor electrónico (Pan y Xing 2008; Wang y col. 2015). En el

presente estudio el umbral de percolación determinado para el biohíbrido SEP-MWCNT 50-50 es del 0,5% en MWCNT, alcanzándose la saturación para un contenido en MWCNT ligeramente superior al 4,3%.

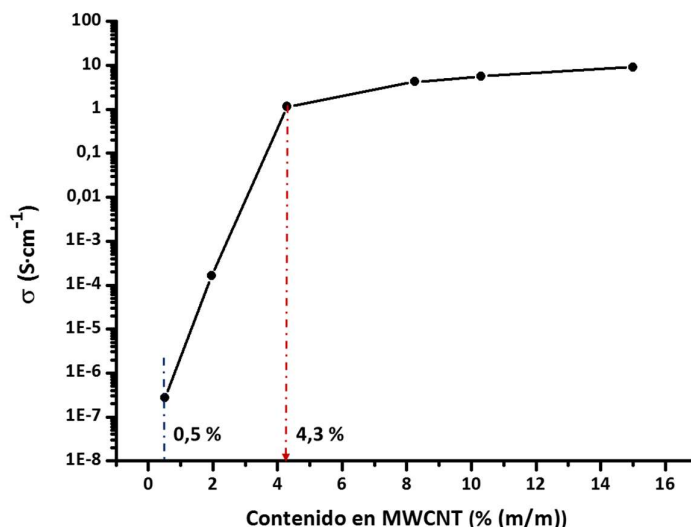


Figura 4.5. Variación de la conductividad eléctrica (en escala logarítmica) en función del contenido en MWCNT incorporado en películas del biohíbrido CNF-SEP 50-50.

Teniendo en cuenta que los materiales compuestos con valores de conductividad eléctrica superiores a 10^{-10} $\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ son considerados de interés en diversas aplicaciones en ingeniería, por ejemplo, adhesivos conductores, recubrimientos o películas antiestáticas, escudos de interferencia electromagnética para dispositivos electrónicos, materiales térmicos para interfases, etc. (Pan y Xing 2008), puede pensarse que los biohíbridos conductores aquí desarrollados pudieran ser aplicables a algunas de estas tecnologías. También podrían ser empleados como componentes en la fabricación de sensores e incluso ellas mismas. podrían ser usadas directamente como sensor si variase su conductividad eléctrica por ejemplo al asociar alguna otra especie, por ejemplo agua o moléculas de un compuesto orgánico. Por ello, y teniendo en cuenta el comportamiento observado frente a la adsorción de vapores de agua, se ha evaluado

la capacidad de estos biohíbridos para ser empleados como fase activa de un sensor de humedad, tal y como se discute en el siguiente apartado.

4.2.2. Aplicación del sistema híbrido CNF-SEP funcionalizado con MWCNT como fase activa de un sensor de humedad

Hay diferentes ámbitos dónde es importante el control o la detección de la humedad, quizás uno los más conocidos es la monitorización ambiental de los servicios meteorológicos (Traversa 1995), pero también es importante en la agricultura, para el almacenaje de semillas o, a nivel industrial, para para el seguimiento y control de procesos químicos, aplicaciones biomédicas (Göpel y col. 2008) y en diversos dispositivos electrónicos (Zampetti y col. 2009), así como en el acondicionamiento de aire, por ejemplo, en habitaciones de hospitales. Los sensores de humedad utilizan cambios en alguna de sus propiedades físicas, un caso típico es el de la variación de la conductividad eléctrica, cuando son expuestos a diferentes condiciones de humedad. Así, por ejemplo, los materiales se podrán utilizar para desarrollar fases activas de sensores, si como consecuencia de la adsorción y/o desorción de moléculas de agua en dicha fase activa se produce una variación de conductividad eléctrica y puede establecerse una relación directa entre esta variación y la humedad relativa. En el caso de los materiales híbridos CNF-SEP-MWCNT aquí estudiados, hemos observado que tienen un comportamiento bastante reproducible en sus propiedades de adsorción de agua y que además poseen relativamente buenas propiedades de conductividad eléctrica, por ello, si se puede establecer una relación entre la variación de la resistencia eléctrica del material y el contenido en agua a una determinada humedad relativa será posible su utilización como fase activa de un sensor de humedad de tipo resistivo (Fratoddi y col. 2016).

Así, se ha procedido a evaluar la respuesta eléctrica de películas de biohíbridos CNF-SEP-MWCNT en condiciones de equilibrio expuesto a diferentes valores de humedad relativa (HR) a una temperatura definida, utilizando para ello un dispositivo de trabajo en el que se ha adaptado el equipo empleado en la determinación de las isothermas de adsorción de agua, tal y como se indica en el apartado 2.5.1 de esta memoria. De entre todas las muestras de híbridos CNF-SEP 50-50 con diferentes contenidos en MWCNT y por tanto con distintos valores de conductividad eléctrica, se observa que solo en algunos casos las respuestas son lineales. Se ha seleccionado una de las muestras que produce una respuesta lineal con la variación de la resistencia al ser expuesta a humedades relativas variables. Se trata del biohíbrido CNF-SEP que contiene 1,23% de MWCNT, y que responde a la humedad relativa como se señala en la Figura 4.6

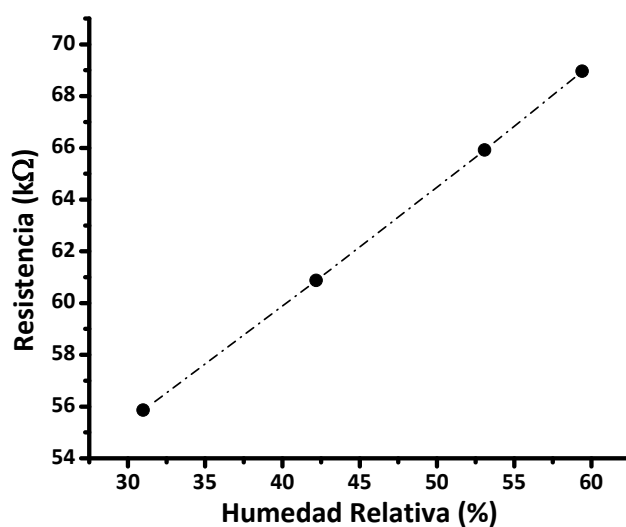


Figura 4.6. Variación de la resistencia eléctrica con la humedad relativa de una película del biohíbrido CNF-SEP 50-50 con un contenido en MWCNT de 1,23%. Experimentos realizados a 26 °C.

Utilizando esta película del biohíbrido CNF-SEP-MWCNT (1,23) se ha analizado la respuesta como sensor de humedad realizando varios ciclos de variación de humedad relativa en subida y bajada ((Figura 4.7). Como puede observarse la respuesta es lineal y reversible en el intervalo estudiado (Tabla 4.2). Debe también señalarse que la respuesta es rápida (del orden de 5-7 segundos), lo que es un dato muy positivo respecto a la potencial aplicabilidad del material como sensor de humedad. Evidentemente será preciso un estudio sistemático más profundo para analizar el intervalo de linealidad de la respuesta, el efecto de la temperatura e incluso el uso de otros biohíbridos con distinta proporción CNF-SEP. Para ello será necesario utilizar un equipamiento experimental específico para la caracterización de este tipo de sensores.

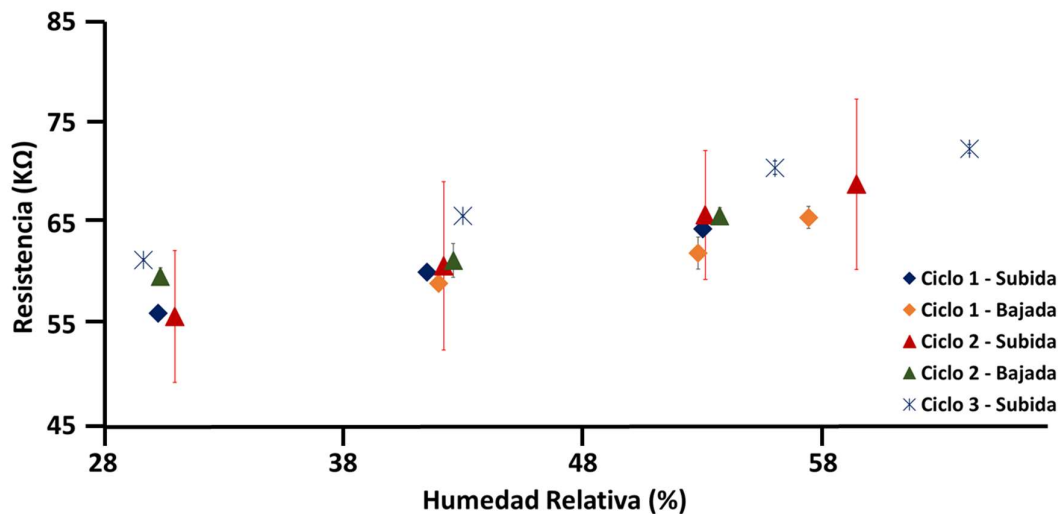


Figura 4.7. Valores de la variación de la resistencia eléctrica con la humedad relativa de una película del biohíbrido CNF-SEP-MWCNT 50-50 (1,23%) en sucesivos ciclos de variación de la misma en subida y bajada. Experimentos realizados a 26 °C.

Tabla 4.2. Valores de ajuste de la recta por mínimos cuadrados de la respuesta del biohíbrido CNF-SEP 50-50 (1,23%) en los sucesivos ciclos de variación de la misma en subida y bajada mostrados en la Figura 4.7.

	Ecuación de la recta de ajuste	R ²
Ciclo 1 (subida)	$Y = (0,37 \pm 0,01)x + (45,04 \pm 0,34)$	R = 0,9999
Ciclo 1 (bajada)	$Y = (0,40 \pm 0,23)x + (42,12 \pm 14,18)$	R = 0,9619
Ciclo 2 (subida)	$Y = (0,46 \pm 0,01)x + (41,52 \pm 0,47)$	R = 0,9999
Ciclo 2 (bajada)	$Y = (0,25 \pm 0,16)x + (51,61 \pm 9,72)$	R = 0,9565
Ciclo 3 (subida)*	$Y = (0,33 \pm 0,02)x + (51,80 \pm 1,52)$	R = 0,9978

* Por problemas instrumentales no fue posible medir la baja de HR correspondiente a este ciclo.

Se ha estimado la sensibilidad del sensor basado en el material biohíbrido CNF-SEP-MWCNT 50-50 (1,23%) empleando para ello las siguientes ecuaciones descritas por Yoo y col. (Yoo y col. 2010):

Ecuación 4:

$$S = \frac{\Delta R / R_0}{\Delta(\%HR)}$$

Ecuación 5:

$$\frac{\Delta R}{R_0} = \frac{R_{RH} - R_0}{R_{R0}}$$

donde R_0 es la resistencia del material tras la etapa inicial de acondicionamiento a la humedad relativa elegida como punto de partida, en este estudio el valor es 66,21 k Ω para la humedad del 17,4%; R_{RH} es la resistencia del sistema a la máxima humedad relativa estudiada, en este estudio 72,46 k Ω para la humedad relativa de trabajo de 64,1%. Utilizando estas ecuaciones se obtiene un valor de 0,00202 para la sensibilidad este sensor a una temperatura de trabajo de 26 °C. El valor obtenido está próximo al descrito para otros sensores de humedad que utilizan materiales nanocomposites que contienen MWCNT y otros polímeros y que se emplean como sensores de humedad. (Yoo y col. 2010; Fratoddi y col. 2016). Sin embargo, observamos ventajas en nuestro

caso comparándolo con sistemas relacionados. Por ejemplo, en el caso de emplear materiales basados exclusivamente en CNF y MWCNT (Salajkova y col. 2013), es decir en ausencia de sepiolita y en cuya realización se han empleado surfactantes para dispersar los MWCNT, sólo se alcanzan valores de la conductividad eléctrica de unos 10^{-3} S/cm cuando el contenido en MWCNT es del 17%, siendo por tanto evidente el potencial de los materiales desarrollados en este trabajo para su uso en este tipo de aplicaciones. Además, tal y como ha demostrado Qi y col. (Qi y col. 2015), algunos composites basados en fibras de celulosa procedente de algodón y MWCNT pueden también ser empleados como sensores de temperatura debido a que presentan propiedades de piezoresistencia, mostrando otra potencial aplicación a explorar de los materiales híbridos CNF-SEP-MWCNT aquí desarrollados. Otra posible aplicación puede estar en el desarrollo de dispositivos de almacenamiento de energía, como los sistemas previamente descritos por Zeng y col. Dichos materiales están constituidos por CNF (como elemento aislante) y MWCNT (como elemento conductor. La interacción entre las cargas de ambos elementos da lugar a la formación de una red de microcondensadores. Las propiedades dieléctricas de dicha red, así como el mecanismo que las origina, conocido como *efecto Maxwell–Wagner–Sillars* (Zeng y col. 2016), dependen de la frecuencia de la excitación eléctrica aplicada al material.

4.3. Biohíbridos CNF-SEP funcionalizados con nanopartículas de magnetita

4.3.1. Síntesis y caracterización

Para la preparación de los híbridos de CNF-SEP que incorporan nanopartículas de magnetita se ha seguido un protocolo de síntesis específico, el cual se detalla en el apartado 2.3.3. Este cambio se debió a que se observó que el uso de la punta de ultrasonidos para llevar a cabo la etapa de homogenización daba lugar a pequeñas contaminaciones de metal provenientes de la misma que se aglomeraban con las NP de magnetita, lo que podría interferir en las propiedades magnéticas de los materiales resultantes. En este estudio se ha trabajado solamente en la preparación de biohíbridos que CNF-sepiolita en una relación 50-50, habiéndose añadido NP de magnetita para alcanzar una concentración de 5 % m/m para la película CNF- Fe_3O_4 y 2,5

% m/m en la película CNF-SEP-Fe₃O₄. En la Figura 4.8 se muestra el aspecto de algunas de las películas preparadas en este estudio.

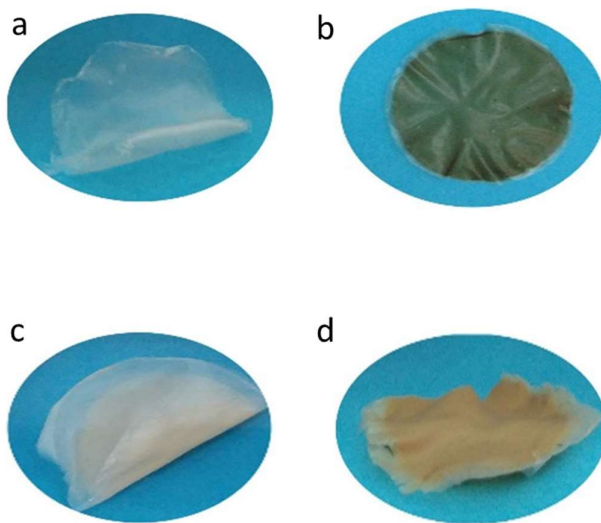


Figura 4.8. Fotografías mostrando el aspecto de películas de a) CNF, b) CNF-Fe₃O₄ (5%), c) CNF-SEP 50-50 y d) CNF-SEP-Fe₃O₄ 50-50 (2,5%).

4.3.1.1. FE-SEM

En la Figura 4.9 se muestra el aspecto de varias películas de biohíbridos basados en CNF y CNF-SEP a los que se les han incorporado nanopartículas de magnetita visualizadas mediante FE-SEM. Las imágenes mostradas han sido tomadas en las mismas condiciones y utilizando el mismo tipo de detector, en este caso un detector vCD (detector de electrones retrodispersados de alta sensibilidad) que permite decelerar el haz para obtener las imágenes. Se observan claras diferencias entre la superficie de las películas de los biohíbridos basados en CNF y CNF-SEP, siendo en este segundo material mucho más rugosa al estar interasociadas la CNF y la sepiolita. La otra diferencia importante es el grado de aglomeración de las nanopartículas de magnetita, hecho que es especialmente relevante en el biohíbrido basado en CNF y NP de magnetita donde se puede una mayor acumulación de las mismas en la superficie de la película. El hecho de que las NP de magnetita se integren mejor en el sistema

basado en CNF-SEP puede deberse a que la presencia de sepiolita favorece la dispersión de las NP y además es una superficie más afín a interactuar con ellas a través de los grupos silanoles superficiales. Así, por ejemplo, González-Alfaro y col. (Gonzalez-Alfaro y col. 2011) muestran la gran afinidad de las NP de magnetita por la superficie de la sepiolita que permite su adsorción a partir de un ferrofluido en el que las NP están modificadas con ácido oleico y donde llegan a cambiar parcialmente ese recubrimiento a fin de interactuar con los grupos silanoles para anclarse a las fibras de sepiolita.

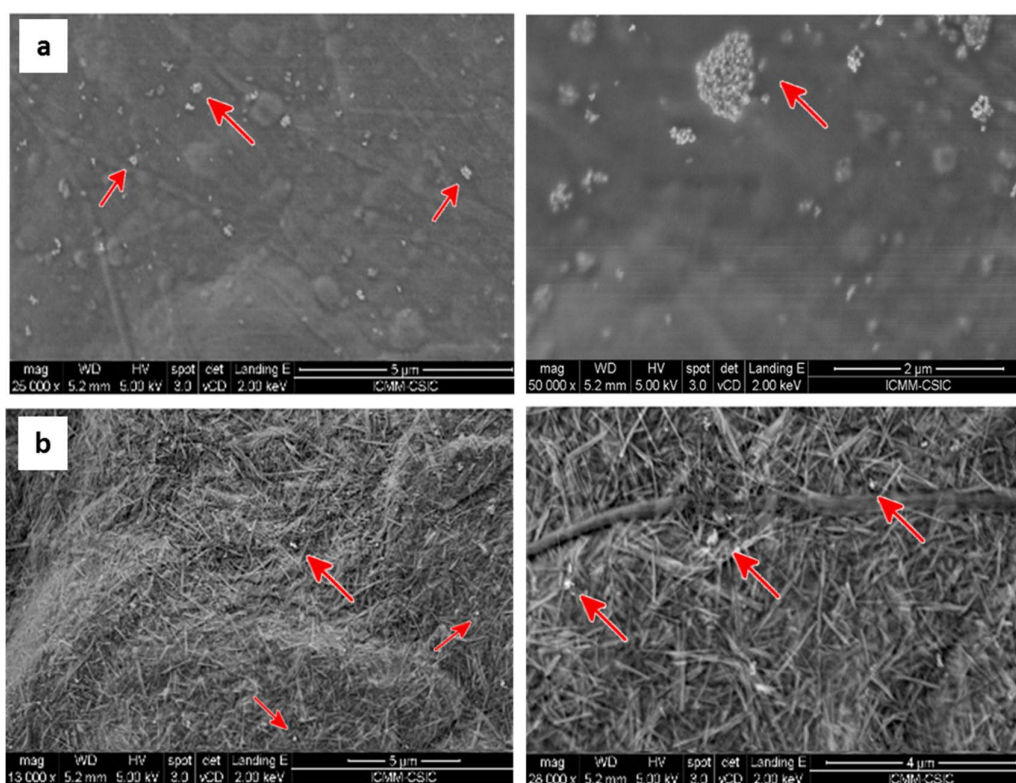


Figura 4.9. Imágenes FE-SEM de películas de los biohíbridos a) CNF-Fe₃O₄ (5%) y b) CNF-SEP-Fe₃O₄ 50-50 (2,5%). Las flechas señalan aglomerados de NP de magnetita.

4.3.1.2. FTIR de los materiales biohíbridos funcionalizados con magnetita

En el espectro IR de las nanopartículas de magnetita utilizadas (Figura 4.10 a) se observan dos bandas intensas a 565 y 629 cm⁻¹ (Waldron 1955). El Fe₃O₄ en forma de material masivo, presenta dos bandas de absorción en el infrarrojo para el enlace Fe-O, situadas en 570 y 375 cm⁻¹, sin embargo, la reducción a escala nanométrica

provoca que estas bandas se desplacen hacia mayores números de onda, y la banda próxima a 600 cm^{-1} se desdobra en las dos señales previamente indicadas (Ma y col. 2003). La Figura 4.10 c muestra el espectro correspondiente a una película constituida por CNF- Fe_3O_4 (5%). Cuando se compara con el de la CNF (Figura 4.10 b), se observan pocas variaciones, apareciendo las señales de ambos componentes a frecuencias muy parecidas a las que se observan en los materiales puros. Este hecho apunta a una interacción débil entre las nanopartículas de magnetita y la CNF. En el caso del biohíbrido CNF-SEP- Fe_3O_4 (Figura 4.10. d) se observan pocas diferencias en relación a los de los tres componentes estudiados independientemente. La banda de las vibraciones $\nu_{(\text{O-H})}$ de los grupos silanoles de la sepiolita aparece a 3720 cm^{-1} , pero no se observa en el biohíbrido que contiene las nanopartículas de magnetita. Resulta complejo saber si es la CNF y/o las nanopartículas de magnetita las que están en interacción con los grupos silanoles presentes en la superficie de la sepiolita. En cuanto a las bandas características de la CNF, no se observan variaciones relevantes con respecto las que aparecen en CNF pura o en el material NFC-SEP 50-50 (Sección 3.2.4), lo que sugiere que la presencia de las nanopartículas de magnetita no parece afectar a la interacción entre la CNF y la sepiolita. A la vista de estos resultados, se puede concluir que la espectroscopía infrarroja aporta en este caso escasa información sobre las interacciones entre las diferentes especies constituyentes del biohíbrido, por lo que ha sido necesario recurrir a otras técnicas de caracterización para tener información al respecto.

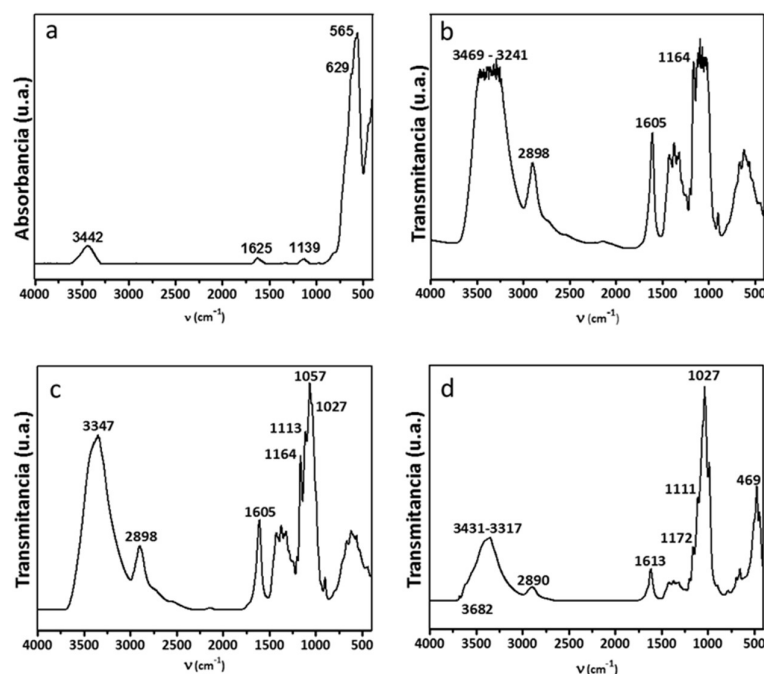


Figura 4.10. Espectros FTIR de muestras puras de a) nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4), y de las películas de b) CNF, c) CNF- Fe_3O_4 (5%) y d) CNF-SEP- Fe_3O_4 50-50 (2,5%).

4.3.1.3. Espectroscopia de fotoemisión de Rayos X

Mediante XPS fue posible determinar la composición química de los biohíbridos CNF- Fe_3O_4 (5%) y CNF-SEP- Fe_3O_4 50-50 (2,5%) conformados como películas, fueron estudiadas mediante XPS, realizando un barrido con una energía 40 eV y un paso de 0,25 eV. La concentración atómica relativa obtenida para los elementos comunes en ambos tipos de muestras, se recogen en la Tabla 4.3. Los elementos mayoritarios en ambas muestras son carbono, oxígeno y sodio, estando presentes otros como silicio y calcio a nivel de trazas. Aunque estos elementos se encuentran normalmente en la sepiolita, su presencia en la CNF ha sido previamente descrita en la sección 3.2.7.

Tabla 4.3. Composición atómica de los biohíbridos CNF- Fe_3O_4 (5%) y CNF-SEP- Fe_3O_4 50-50 (2,5%) obtenidas a partir de los correspondientes espectros de XPS.

	C (%)	O (%)	Na (%)	Si (%)	Ca (%)
CNF-Fe_3O_4	50,8	17,4	28,0	3,7	0,1
CNF-SEP-Fe_3O_4 (50-50, 5%)	37,8	20,1	35,4	6,6	0,1

Se ha realizado un análisis más detallado de las señales correspondientes a los niveles C1s y O1s con una energía de 20 eV y una anchura de barrido de 0,1 eV, introduciendo la oportuna corrección de las señales y asignando una energía de ligadura de 287 eV a los enlaces C-O. Los espectros han sido normalizados para maximizar la intensidad de cada pico y facilitar la comparación entre diferentes muestras (Figura 4.11). De forma similar a lo discutido en la Sección 3.2.7, el espectro de fotoemisión de O1s es bastante parecido en ambas muestras y similar tanto con el de la CNF como el del biohíbrido CNF-SEP, lo que imposibilita obtener conclusiones. Sin embargo, el espectro de C1s muestra algunas diferencias relacionadas con el de la CNF como se recoge en la Sección 3.2.7. La presencia de las nanopartículas de magnetita en la CNF se traduce en ligeros cambios en la señal de C1s en comparación con la de la CNF (Figura 3.17). La deconvolución revela que hay una mayor contribución de la componente a 288,5 eV, atribuida a enlaces O-C-O, con respecto a la señal a 287 eV asociada a los enlaces C-O, manteniéndose sin cambios relevantes el resto de componentes. Este resultado apunta a que puede existir una interacción de las nanopartículas de magnetita con las fibras de CNF en la que deberían de estar implicados los carbonos 2 y 3 del anillo de piranosa. Este tipo de efecto es el mismo que se había observado en los biohíbridos CNF-SEP, lo que parece indicar que en este caso la CNF mantiene una cierta interacción con las nanopartículas de magnetita, probablemente asociada a la presencia de grupos hidroxilos superficiales en ambos tipos de compuestos inorgánicos. Cuando además de la CNF está presente la sepiolita (biohíbrido CNF-SEP-Fe₃O₄ 50-50 (2,5%)) no parece haber cambios relevantes en comparación con el biohíbrido CNF-SEP 50-50 (Figura 3.17) ni tampoco cuando se compara el peso relativo de las diferentes componentes (Tabla 3.4 y Tabla 4.4), lo que indica que el tipo de interacciones debe ser similar en ambos sistemas.

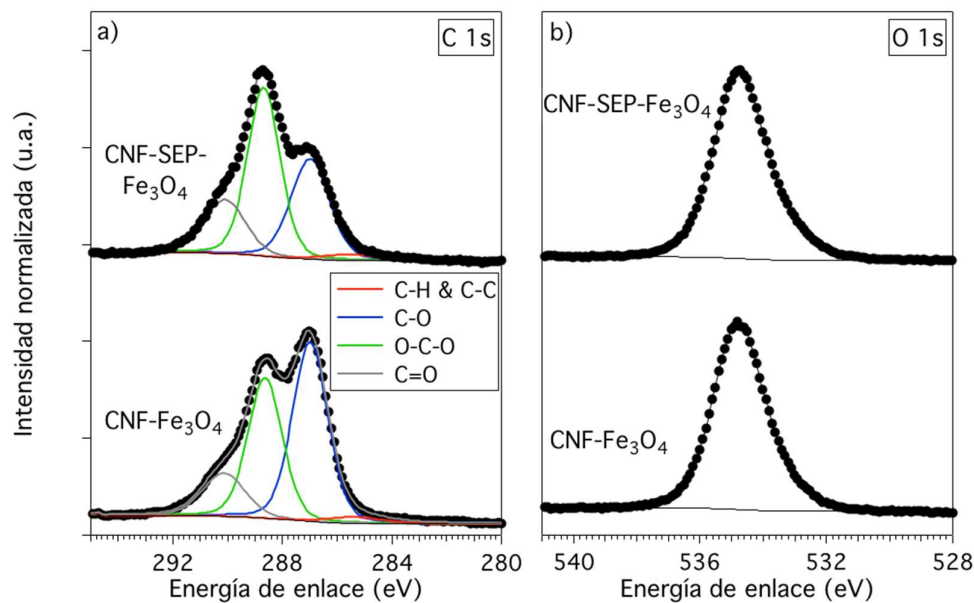


Figura 4.11. Espectros XPS mostrando las señales de C1s (izquierda) y O1s (derecha) de los biohíbridos CNF-Fe₃O₄ (5%) y CNF-SEP-Fe₃O₄ 50-50 (2,5%).

Tabla 4.4. Intensidad relativa de cada una de las componentes de la señal XPS asociada a C1s determinada a partir del ajuste de los espectros XPS obtenidos para los biohíbridos CNF-Fe₃O₄ (5%) y CNF-SEP-Fe₃O₄ 50-50 (5%).

	C=O (%)	O-C-O (%)	C-O (%)	C-H & C-C (%)
CNF-Fe₃O₄	13,8	36,2	47,4	2,6
CNF-SEP-Fe₃O₄ (50-50, 5%)	18,5	46,1	32,5	2,9

4.3.1.4. Caracterización magnética

Los materiales biohíbridos a los que se les han incorporado nanopartículas de Fe_3O_4 presentan una magnetización lo suficientemente intensa como para ser atraídos por un imán permanente (ver Figura 4.12).

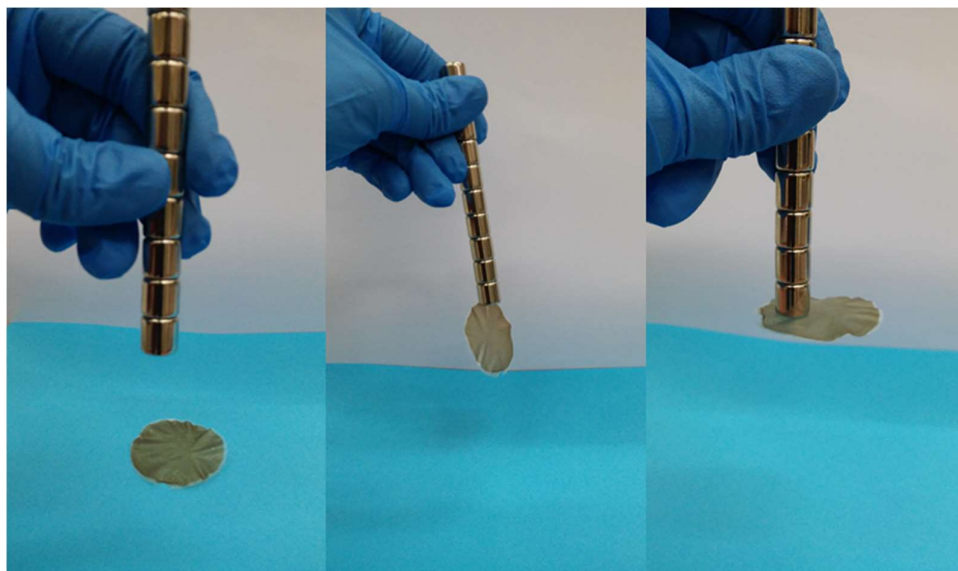


Figura 4.12. Comportamiento de una película CNF- Fe_3O_4 (5%) ante un imán permanente.

Estos materiales se han caracterizado magnéticamente mediante la técnica SQUID y en la Figura 4.13 se muestran las correspondientes curvas de magnetización obtenidas en diferentes condiciones experimentales. Como es de esperar, la CNF muestra un comportamiento diamagnético tanto a temperatura ambiente como a 4 K, (Figura 4.13 a), con una magnetización del orden de 0,1 emu/g a 1,5 T. Ampliando la curva en las zonas próximas a campo coercitivo cero se observa cierta magnetización que puede estar asociada a un débil comportamiento paramagnético y/o ferromagnético, muy probablemente originado por la presencia de una baja concentración de impurezas presentes en la CNF. El comportamiento magnético es totalmente diferente cuando se incorporan nanopartículas de magnetita en la CNF (Figura 4.13 b), observándose en el material un comportamiento de tipo ferromagnético incluso a temperatura ambiente. El valor de la magnetización de saturación es de 3 emu/g, y teniendo en cuenta que para las nanopartículas de

magnetita solas es de 92 emu/g para nanopartículas de magnetita de 45 nm (Kolhatkar y col. 2013), puede deducirse que las mismas mantienen sus propiedades y que la disminución observada se debe a que su contenido en el biohíbrido es muy bajo (aproximadamente 5% m/m). En la ampliación del ciclo de histéresis se pueden apreciar los campos coercitivos de 260 y 75 Oe a 4K y temperatura ambiente, respectivamente.

En la Figura 4.13.c se muestra la curva de magnetización del biohíbrido CNF-SEP-Fe₃O₄ (5%). Aunque la sepiolita puede presentar un cierto paramagnetismo asociado a la presencia de una pequeña cantidad de iones Fe²⁺ y Fe³⁺ (Galán y Singer 2011), incluso a 4 K el comportamiento ferromagnético de las nanopartículas es el dominante. Además, el comportamiento observado para este biohíbrido no parece ser muy diferente del observado en el híbrido CNF-Fe₃O₄ (5%), confirmando la presencia de ferromagnetismo en el material como consecuencia de la presencia de las nanopartículas de magnetita. Sin embargo, la curva de magnetización obtenida a 4 K parece estar acompañada de una señal paramagnética. De hecho, el campo coercitivo observado es también de 270 y 70 Oe a 4 K y temperatura ambiente, respectivamente. La variación observada en los valores de la magnetización de saturación en los biohíbridos se debe a que el contenido en peso total de material de magnetita es la mitad, en el biohíbrido que contiene sepiolita.

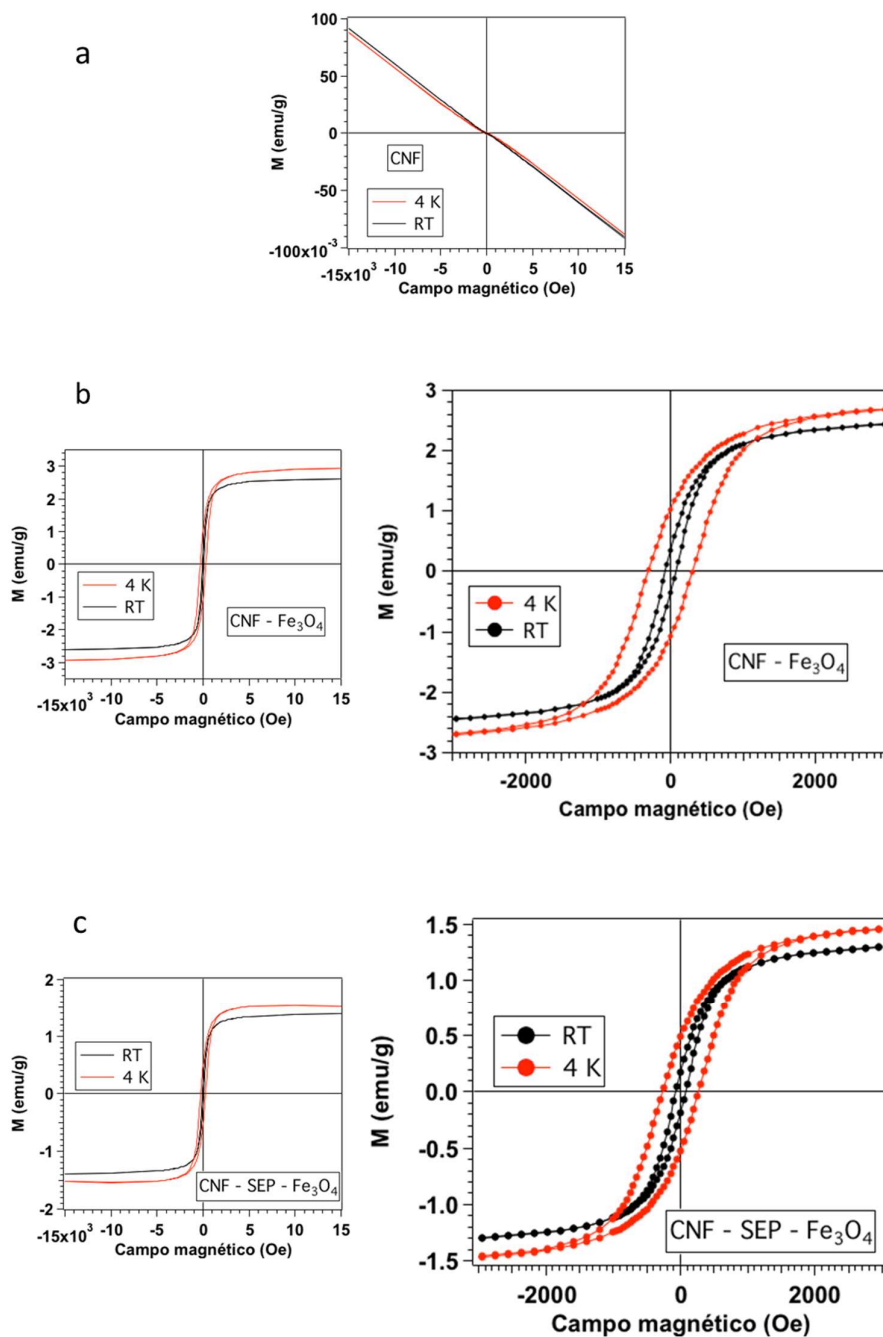


Figura 4.13. Curvas de magnetización obtenidas a temperatura ambiente (RT) y 4 K en los materiales: a) CNF, b) CNF-Fe₃O₄ (ampliación del ciclo de histéresis a la derecha), c) CNF-SEP-Fe₃O₄ (50-50, 2,5%) (ampliación del ciclo de histéresis a la derecha).

4.4. Biohíbridos CNF-SEP funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc*

4.4.1. Síntesis y caracterización

Tal y como ocurre con la preparación de los materiales híbridos funcionales descritos en las anteriores secciones de este capítulo, también ha sido necesario adaptar y optimizar la metodología de preparación de los biohíbridos CNF-SEP para la incorporación en este caso de nanopartículas de ZnO. Se ensayaron varias aproximaciones de síntesis y finalmente se adoptó el protocolo experimental descrito en el apartado 2.3.4 en el que las nanopartículas de ZnO se asocian primero a la sepiolita. Cuando se intentó hacer el ensamblado de las nanopartículas de ZnO a partir de dispersiones en etanol que se adicionaron a un hidrogel de CNF o una dispersión de CNF-SEP, se observó que producían desestabilización de los mismos y la aparición de fases segregadas. En el caso de los hidrogeles de CNF esto puede explicarse porque es conocido que a pH ácido, o en presencia de concentraciones elevadas de sales, puede inducirse una agregación de fibras de CNF, perdiéndose por tanto la estabilidad del gel (Fall y colaboradores (Fall y col. 2011)). En el presente caso la pérdida de estabilidad como consecuencia de la incorporación de las nanopartículas de ZnO podría estar relacionada con una mayor presencia de especies iónicas en el medio. Sin embargo, cuando las nanopartículas se incorporan inicialmente asociadas a las fibras de sepiolita, y así se dispersan posteriormente en el hidrogel de CNF, se consigue un gel homogéneo y estable, donde los materiales SEP-ZnO se comportan como la sepiolita sola, generándose dispersiones estables capaces de ser conformadas en forma de película (Figura 4.14). Tras diversos ensayos, se ha comprobado que el sistema que mejor alcanza la estabilización es el que contiene una proporción CNF:sepiolita de 25:50, y teniendo presente que el híbrido SEP-ZnO que mejores propiedades ha presentado en estudios previos es el que tiene una proporción sepiolita:ZnO nanopartículas de 2:1 (Akkari y col. 2016), se ha elegido la proporción CNF:sepiolita:ZnO nanopartículas 1:2:1 (biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%)) para la continuación del trabajo.

* parte de este trabajo se ha realizado en colaboración con la Dra. Marwa Akkari

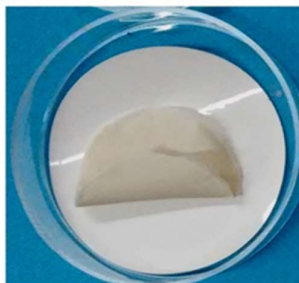


Figura 4.14. Aspecto de una película del biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%).

4.4.1.1. FE-SEM, STEM y EELS

El material híbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) ha sido caracterizado mediante diferentes técnicas de microscopía. La morfología de las nanopartículas de ZnO ha sido previamente estudiada y descrita por Akkari y colaboradores (Akkari y col. 2016), quienes han determinado que el tamaño de las nanopartículas se encuentra entre 7 y 10 nm. En la Figura 4.15. se muestra una imagen FE-SEM del material híbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%), en la que se puede observar como las nanopartículas de ZnO (visibles como puntos brillantes en la imagen) se encuentran distribuidas bastante homogéneamente en el entramado que forman ambos tipos de fibras. Cuando se realiza un análisis EDX de la muestra, en los correspondientes mapas de distribución de elementos se puede apreciar que tanto el Zn aparece en regiones donde hay carbono, relacionadas con la CNF, como en las que aparece Si y Mg, claramente asociados a la sepiolita, por lo que de acuerdo con este resultado parece que en principio las nanopartículas de ZnO pueden encontrarse en interacción con ambos tipos de fibras a pesar de que se han vehiculizado a través de la sepiolita.

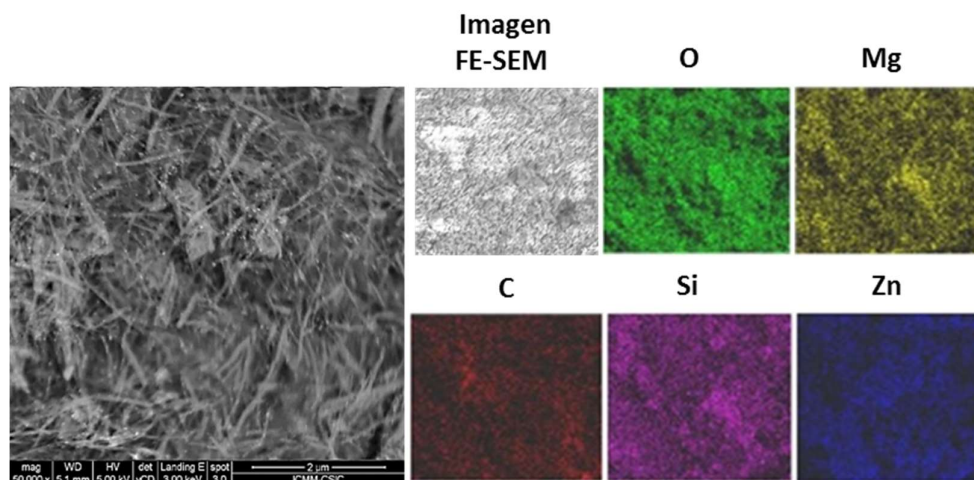


Figura 4.15. Imagen FE-SEM (izquierda) y mapas de distribución de elementos determinada por EDX en el biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%).

Igualmente el biohíbrido ha sido analizado mediante microscopía electrónica de transmisión en este caso empleando un equipo de STEM que tiene acoplado un analizador de tipo EELS. En la imagen que se muestra en la Figura 4.16, son claramente visibles las nanopartículas de ZnO y se comprueba por difracción de electrones (recuadro de la imagen central de la Figura 4.16 a) que corresponde a una fase cristalina con estructura tipo wurtzita ($P6_3mmc$). Realizando una ampliación de la nanopartícula de ZnO (imagen de la derecha en la Figura 4.16 a) se comprueba claramente la distribución atómica a lo largo del plano $[011]$, donde se distinguen esferas, que podrían estar asociadas a posiciones atómicas de Zn separadas por una distancia de aproximadamente $0,8 \text{ \AA}$. La correspondiente modelización de esta imagen (recuadro de la imagen derecha de la Figura 4.16.a en la que los átomos de Zn aparecen en gris y los de O en rojo), confirma la típica estructura cristalina hexagonal en dichas nanopartículas. A partir del análisis de la imagen del espectro EELS es posible también obtener información de la distribución de elementos en las partículas observadas. Así, analizando con ayuda de mapas de las señales características observadas y teniendo en cuenta que la de Si- $L_{2,3}$ está presente sólo en el silicato, se aprecia que la señal O-K puede aparecer tanto en zonas donde hay sepiolita como donde hay CNF o ZnO, y que la señal Zn- $L_{3,2}$ corresponde exclusivamente a las zonas

donde se localizan las nanopartículas de ZnO. De esta manera es posible determinar la distribución de los tres tipos de partículas, tal y como se muestra en la secuencia de imágenes recogida en la Figura 4.16. b.

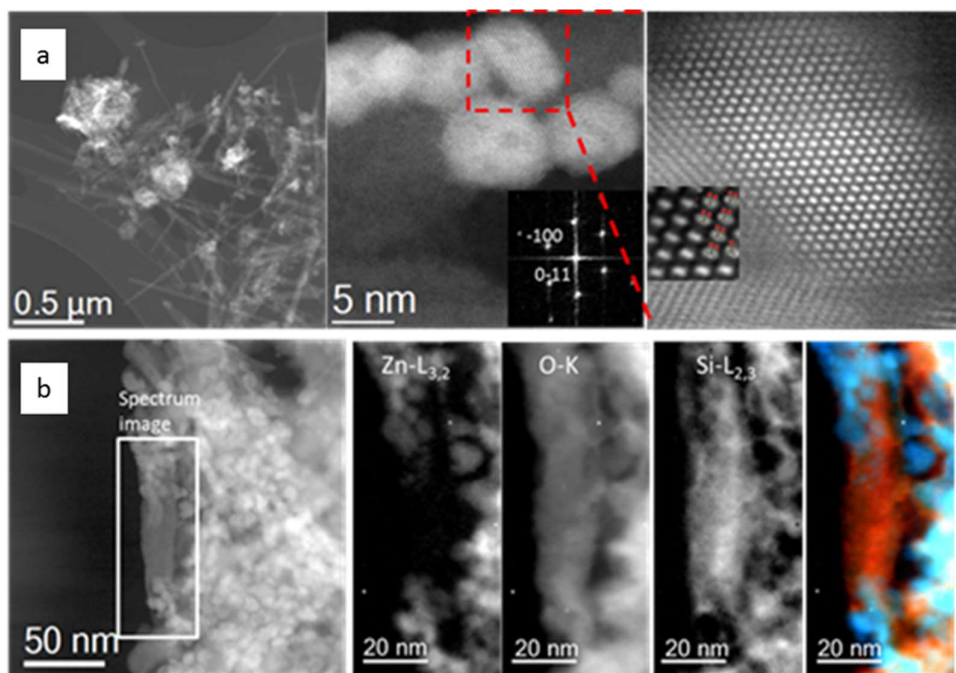


Figura 4.16. a) Imágenes Cs-STEM-HAADF mostrando el aspecto del biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) (izquierda), un detalle de la zona donde aparecen las nanopartículas de ZnO en la que el recuadro corresponde al diagrama de difracción de electrones de las mismas (centro), y ampliación de la imagen y su modelización (recuadro) correspondiente a las nanopartículas de ZnO a lo largo del eje de zona [011] (derecha); b) Mapas de distribución de elementos obtenidos por análisis EELS de la zona del biohíbrido mostrada en la imagen de la izquierda (el código de colores es: azul para Zn-L_{3,2}, amarillo O-K y rojo Si-L_{2,3}) El C-K no se muestra por la naturaleza de la rejilla empleada (de carbono).

4.4.1.2. FTIR de los biohíbridos CNF-SEP funcionalizados con ZnO

Cuando se compara el espectro FTIR del biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) con los de los componentes individuales del material no parece haber grandes diferencias, tal y como ocurría con el biohíbrido que incorporaba nanopartículas de magnetita, lo que indica que, en general, las interacciones que pueden darse entre los 3 tipos de partículas no provocan ningún cambio estructural en los materiales implicados. En el

caso de la banda asociada a las vibraciones $\nu_{(O-H)}$ de los grupos silanoles de la sepiolita y que en el silicato aparece a una frecuencia de 3720 cm^{-1} , el desplazamiento observado se atribuye principalmente a la interacción de las nanopartículas con la sepiolita, tal y como han descrito Akkari y col. (Akkari y col. 2016). En la Figura 4.17, se muestra el espectro IR (región comprendida entre 3720 y 3620 cm^{-1}) de cada una de las muestras caracterizadas. En esta región espectral, la CNF no muestra absorción IR (4.17.b) y las bandas que aparecen en el biohíbrido con y sin modificación por ensamblado de las nanopartículas de ZnO (4.17.b y 4.17.c, respectivamente) son solamente atribuibles a los hidroxilos de la sepiolita (Si-OH) principalmente.

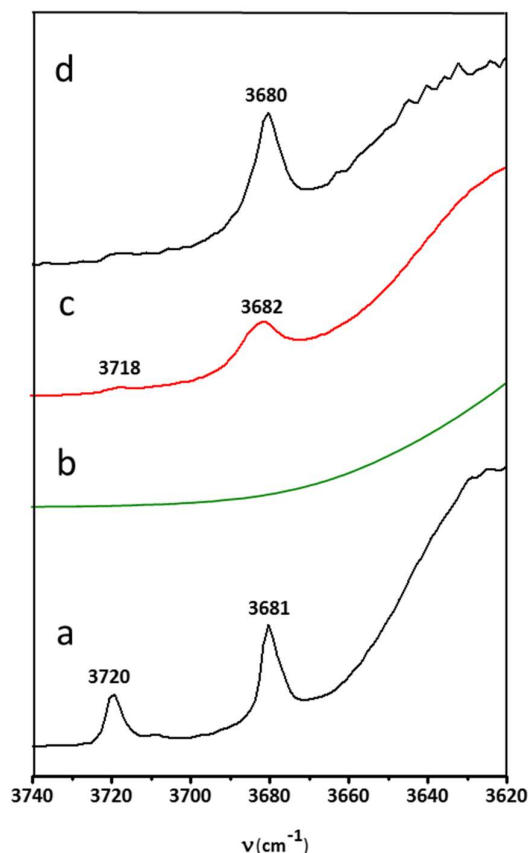


Figura 4.17. Espectros FTIR en la región $3740\text{-}3620\text{ cm}^{-1}$ de muestras puras de a) sepiolita, b) CNF y de los biohíbridos c) CNF-SEP 25-50 y d) CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%).

4.4.1.3. DRX

Los difractogramas de una película del biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) puede verse en la Figura 4.18, junto con la de los componentes por separado y la de una película del biohíbrido CNF-SEP 25:50, es decir que contiene el doble de sepiolita que de CNF. Es interesante destacar que el biohíbrido CNF-SEP 25:50 tiene una composición intermedia entre los biohíbridos CNF-SEP 40-60 y CNF-SEP 20-80 descritos en la Sección 3.2.5, siendo su difractograma (Figura 4.18 c) más parecido al de las películas de CNF-SEP 20-80. De hecho, en el material CNF-SEP 25:50 se observa una disminución de intensidad relativa más acusada entre el pico (110) con respecto a la del pico (080) de la sepiolita, lo que puede ser nuevamente adscrito a una desorientación entre las fibras dentro de la película como consecuencia de la presencia de CNF.

En el caso del difractograma del biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) debe destacarse los siguientes hechos interesantes. Por un lado, los picos están menos definidos, son más anchos y la relación señal/ruido es mucho peor que en cualquiera de los otros diagramas, incluido el del biohíbrido CNF-SEP 25:50, lo que apunta a una mayor desorganización de las partículas en la película. En comparación con el difractograma del biohíbrido CNF-SEP 25:50 se observa un perfil parecido, si bien es más visible un pico de baja intensidad a 0,38 nm que está relacionado con el plano (002) de la CNF (Figura 4.18 a). También en este caso el pico (110) relacionado con la sepiolita es casi de la misma intensidad que el (080), como ocurre con los biohíbridos CNF-SEP 20-80 y 10-90 (Figura 3.14 f y g). Estas diferencias con respecto a lo observado en el biohíbrido CNF-SEP 25:50 parecen indicar que un mayor contenido en partículas inorgánicas produce un efecto similar ya sea en su interacción exclusivamente con sepiolita o, como en este caso, por la presencia simultánea de sepiolita y nanopartículas de ZnO, en la muestra CNF-(SEP-ZnO) con una relación 25:75. Por último, son claramente observables nuevos picos a espaciados de 0,28, 0,26 y 0,25 nm que coinciden con los 3 picos más intensos del difractograma de las ZnO (Figura 4.18 e) y que se adscriben a reflexiones de los planos (100), (002) y (101) característicos de ZnO con una estructura cristalina hexagonal tipo wurtzita (JCPDS, 36-1451)(Omri y col. 2014).

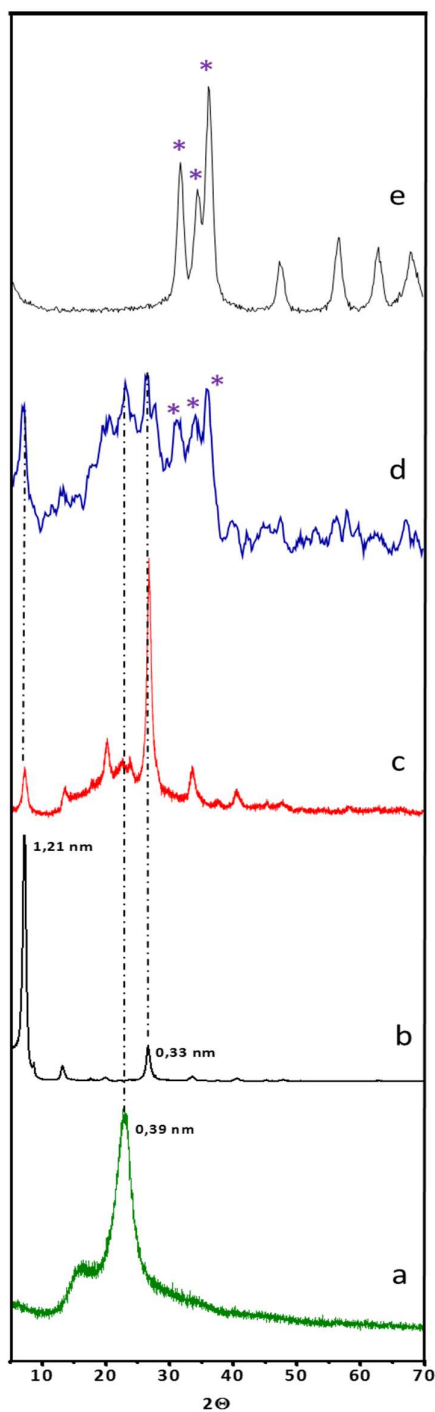


Figura 4.18. Patrones de difracción de rayos X de películas de: a) CNF, b) sepiolita, y de los biohíbridos c) CNF-SEP 25-50 y d) CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%). Los picos marcados con * corresponden a las reflexiones características de la fase wurtzita del ZnO e) nanopartículas de ZnO.

4.4.1.4. Actividad fotocatalítica

Los materiales CNF-SEP-ZnO pueden tener interés en diversas aplicaciones relacionadas con las nuevas propiedades asociadas a la presencia de las nanopartículas de ZnO. Así, el carácter semiconductor de estas nanopartículas las dota de interesantes propiedades de absorción de radiación de longitudes de onda por debajo de los 400 nm, lo que por ejemplo puede ser relevante para aplicaciones relacionadas con procesos de fotocatálisis, como es el caso por ejemplo de tratamientos de descomposición de contaminantes orgánicos en aguas (Lee y col. 2016). Con esta perspectiva, se ha registrado el espectro de absorción en la región UV-Visible en el material CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) para conocer cómo ha afectado en sus propiedades ópticas la incorporación de las nanopartículas de ZnO al biohíbrido. En la Figura 4.19. se muestran los espectros obtenidos para el biohíbrido y las nanopartículas de ZnO de partida. Las nanopartículas de ZnO presentan un perfil de absorción característico a partir de 386 nm hacia la zona de menores frecuencias en el espectro UV (Klingshirn 2007). En el caso del biohíbrido el perfil de absorción se desplazada ligeramente hacia menores longitudes de onda pudiéndose establecer a partir de 379 nm, si bien el material presenta una ligera absorción entre 400 y 550 nm que debe de estar asociada a la presencia de CNF y sepiolita.

A partir de estos espectros que aparecen en la Figura 4.19 es posible calcular la energía del *gap* de banda (E_g), empleando para ello la ecuación 4.1 (Xu y col. 2010):

Ecuación 4.1:

$$E_g = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

donde h es la constante de Planck, λ en la longitud de onda y c la velocidad de la luz. A partir de la misma ha sido posible calcular el band gap para las nanopartículas de ZnO y para el biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%), obteniéndose para cada una de ellas un valor de 3,21 y 3,27 eV, respectivamente. Como puede observarse hay un ligero incremento en el *band gap* cuando las nanopartículas de ZnO se incorporan al material

biohíbrido, aunque al ser un valor de energía bastante próximo no caben esperar cambios significativos en la actividad fotocatalítica de las mismas.

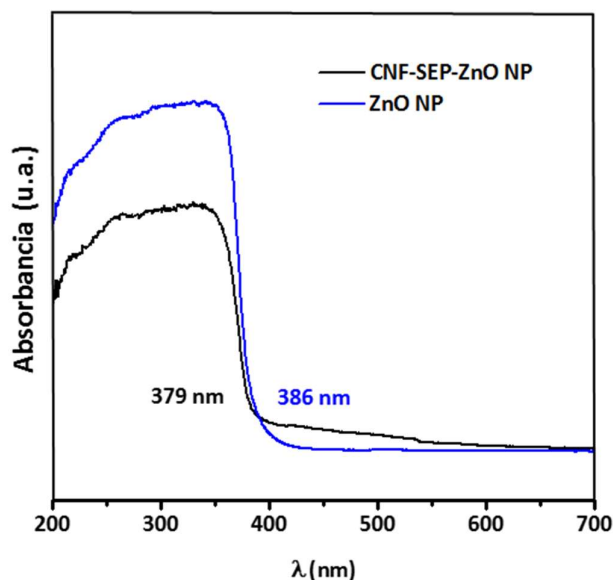


Figura 4.19. Espectros de absorción en la región UV-Visible de nanopartículas de ZnO y del material híbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%).

Para evaluar la actividad fotocatalítica del biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) se ha empleado azul de metileno como modelo de un compuesto orgánico como contaminante en aguas. La elección de este tipo de colorante facilita el seguimiento de la reacción, ya que el progreso de su descomposición bajo irradiación con luz ultravioleta está asociado a una decoloración de la disolución que se puede monitorizar fácilmente mediante espectrofotometría UV-visible (ver detalles en la Sección 2.4.20). En la Figura 4.20 se muestra la evolución de la concentración de azul de metileno en función del tiempo de irradiación en presencia del biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%), así como la de las nanopartículas de ZnO (sin ensamblar), así como el efecto de fotólisis (fotodescomposición en ausencia de catalizadores). Se comprueba que es posible alcanzar una descomposición del colorante del 100% después de 5 horas de irradiación. En el caso de las nanopartículas de ZnO se consigue un efecto similar aunque en un tiempo ligeramente inferior. Claramente este experimento confirma que las nanopartículas de ZnO mantienen una actividad comparable a cuando

no se encuentran soportadas, si bien es de destacar que su incorporación en las películas de biohíbridos CNF-SEP puede suponer otras ventajas como puede ser su fácil eliminación del medio acuoso, facilitar la recuperación del catalizador, así como su uso en otras aplicaciones en que las nanopartículas sin ensamblar no son operativas. Así, el interés de estos biohíbridos en procesos de degradación fotocatalítica de contaminantes orgánicos en agua, es claro teniendo en cuenta que al soportar las nanopartículas de ZnO es más fácil la recuperación y reciclaje del fotocatalizador y que se limita la contaminación secundaria asociada a la pérdida de las nanopartículas durante su aplicación en el tratamiento de aguas.

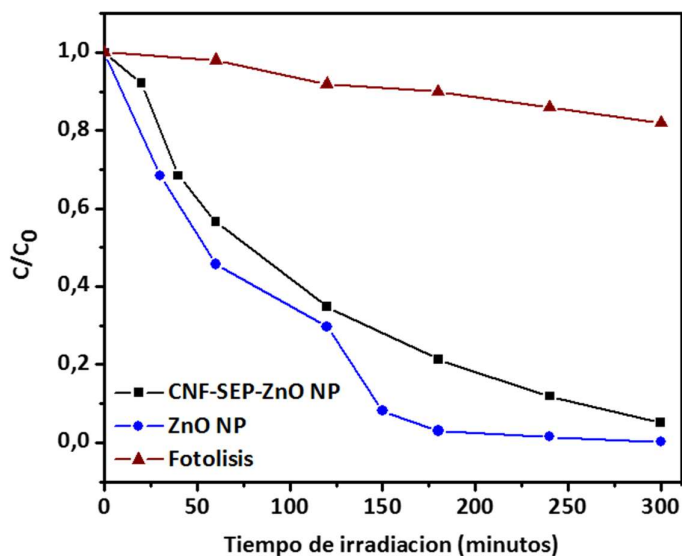


Figura 4.20. Evolución de la concentración de azul de metileno con el tiempo de irradiación bajo luz UV en presencia de nanopartículas de ZnO y el biohíbrido CNF-SEP-ZnO 25-50 (25%) como catalizadores.

4.5. Conclusiones

En este capítulo se ha llevado a cabo la modificación de biohíbridos CNF-SEP a los que se ha conseguido incorporar nanopartículas de diferente naturaleza a fin de dotar de nuevas funciones a estos materiales. Las propiedades finales vendrán determinadas por el tipo de función asociado a la naturaleza de la nanopartícula ensamblada, lo que puede servir para expandir las aplicaciones de este tipo de materiales biohíbridos. En este contexto se han conseguido obtener con éxito materiales biohíbridos que contienen MWCNT que dotan al biohíbrido de propiedades de conductividad eléctrica, nanopartículas de magnetita que incorporan ferromagnetismo, y asimismo nanopartículas de ZnO, generando materiales que pueden ser empleados en procesos de fotocátalisis.

En todos los casos se ha comprobado que la presencia de sepiolita ejerce un papel clave para alcanzar el grado de integración y ensamblado entre los diversos componentes. Aunque aquí se han seleccionado tres tipos de nanopartículas para la modificación del biohíbrido, es claro que la metodología utilizada es altamente versátil y que puede ser extendida a otras muchas más, e incluso se podría ensayar la combinación de nanopartículas provistas de diferentes funciones al objeto de obtener materiales multifuncionales. En efecto, la metodología de base para la preparación de los mencionados biohíbridos funcionales se ha mantenido en líneas generales en las diferentes preparaciones llevadas a cabo, debiendo ser adaptada y optimizada en cada caso dependiendo de la naturaleza de la nanopartícula a incorporar con vistas a nuevas funcionalizaciones.

Una ventaja adicional aplicable a todos los casos aquí estudiados es que al utilizar como material de partida dispersiones homogéneas de los componentes, es posible realizar posteriormente un procesado bien controlado para obtener por ejemplo películas autoportadas cuyo interés incide en muy diversos campos de aplicación.

5. FUNCIONALIZACION QUIMICA POST- SINTESIS: PERSPECTIVAS DE FUTURAS APLICACIONES

5.1. Funcionalización química post-síntesis

En este capítulo se pretende dar una visión general de los aspectos más destacables relacionados con la funcionalización post-síntesis de los materiales biohíbridos CNF-SEP, así como exponer distintas consideraciones sobre posibles actuaciones a realizar en un futuro especialmente en lo relativo a la introducción de nuevas funciones con vistas a posibles aplicaciones prácticas. En efecto, a lo largo de esta Tesis Doctoral se ha puesto claramente de manifiesto que la combinación de los dos tipos de nanofibras, orgánica e inorgánica, da lugar a un material de gran versatilidad que es susceptible de funcionalización adicional mediante incorporación de nanopartículas de diferente naturaleza. Los tratamientos químicos post-síntesis aparecen como una nueva posibilidad de funcionalización empleando diversos reactivos diversos como a continuación se menciona.

En realidad, el grado de versatilidad es muy elevado puesto que siempre es posible modificar proporciones biohíbridos con proporciones distintas de cada uno de sus componentes, obteniéndose materiales de contenido modulable en la fracción orgánica e inorgánica con la capacidad añadida de la modificación deliberada de la superficie de uno, otro o ambos tipos de fibras. En este sentido, debe tenerse en cuenta que, tal y como se ha visto anteriormente, la mayor presencia de grupos carboxilos en la superficie de la CNF implica un cambio importante en el grado de interacción entre ambas fibras, conllevando a materiales provistos de diferentes propiedades, como es por ejemplo la variación de su carácter hidrofílico. Es indudable que un conocimiento más profundo de los distintos aspectos físico-químicos y especialmente de la reactividad de estos materiales, sería la clave que permitiría modular sus propiedades en función de las aplicaciones buscadas.

Hasta la fecha se han descrito multitud de trabajos en los que se describe la capacidad de modificación de la superficie de las fibras de CNF, tal y como se describió en la introducción del capítulo 3. La presencia de un elevado número de grupos hidroxilo y de carboxilos en la superficie de CNF, hace a estas nanofibras susceptibles de ser modificadas químicamente, como por ejemplo mediante incorporación de grupos catiónicos (Chaker y Boufi 2015), esterificación (Ifuku y col. 2007), sulfonación (Liimatainen y col. 2013) silanización (Robles y col. 2015), etc. Además de estos

ejemplos y otros muchos recogidos en bibliografía, durante el desarrollo de este trabajo se han realizado diversos ensayos de tratamientos químicos con el objetivo de modificar la superficie de estas nanofibras de celulosa, presentes en las películas híbridas ya preparadas (CNF-SEP-CNT) habiéndose obtenido resultados positivos.

La primera modificación química que se ha realizado en este trabajo ha consistido en la oxidación de forma selectiva de los hidroxilos presentes en las fibras de nanocelulosa para generar grupos aldehídos tal y como se ha descrito en el capítulo 2 (apartado 2.3.5), con vista a poder realizar ulteriormente diferentes ensayos de anclaje través de enlaces covalentes con objeto de lograr nuevas funcionalizaciones. Un ejemplo, en este sentido sería el anclaje de enzimas aprovechando la formación de estas funciones aldehído. La reacción empleada para este fin ha sido la reacción de Malaprade, conocida por ser empleada para la oxidación de dioles vecinales en polisacáridos (Sirvio y col. 2016). Posteriormente, mediante tratamiento con el reactivo de Tollens (reacción “del espejo de plata”), se ha evaluado de forma cualitativa la presencia de estos aldehídos, en la superficie de la película, habiéndose obtenido una respuesta afirmativa en las experiencias desarrolladas en este sentido. El esquema de estos procesos de modificación química de los materiales biohíbridos CNF-SEP 50-50, modificados por ensamblaje con MWCNTs para proveer de conductividad eléctrica a dichos materiales, se ilustra en la Figura 5.1. Estos resultados abren un interesante camino de potencial funcionalización de estos materiales biohíbridos por vía química que es complementaria a la desarrollada anteriormente mediante ensamblaje de nanopartículas de distinta naturaleza.

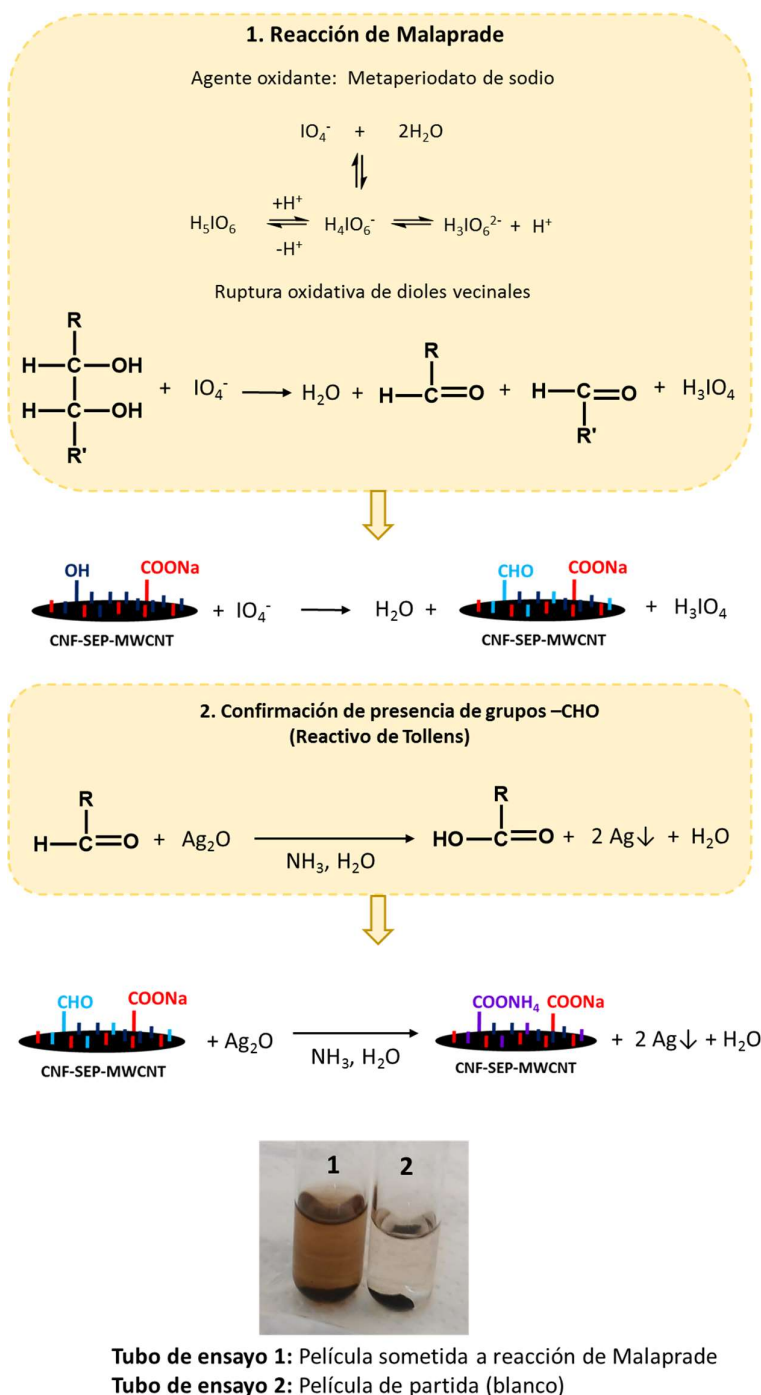


Figura 5.1. Esquema de la reacción de Malaprade y su aplicación al sistema CNF-SEP-CNT (50-50, 4%) con la reacción mediante el reactivo de Tollens. En el gráfico se observa que en el tubo de ensayo 1 existe un cambio de color atribuido a la presencia de grupos aldehídos, mientras que en el tubo de ensayo 2 no se aprecia este cambio de color donde no existen grupos aldehído).

Un segundo tipo de funcionalización química ensayado en este trabajo, ha consistido en una reacción de silanización aplicando un proceso denominado de co-hidrólisis donde en un medio ácido se produce la hidrólisis simultánea del silicato (sepiolita) y de un silano (conteniendo grupos $\equiv\text{Si-X}$, donde $\text{X} = \text{OR}, \text{Cl}$) (Ruiz-Hitzky y Fripiat 1976; Ruiz-Hitzky y col. 2003). El objetivo es formar enlaces covalentes entre el silano seleccionado y los grupos Si-OH de la sepiolita para incorporar así al material las funciones presentes en los grupos orgánicos de un organosilano. La base de este proceso reside en que el medio ácido produce una extracción de iones magnesio localizados en la capa octaédrica de la sepiolita, generándose grupos silanoles “frescos” altamente reactivos, capaces de producir reacciones de condensación con los organosilanoles producidos a su vez por hidrólisis del cloro o alcoxi-organosilano empleado (ecuación 5.1):



Finalmente se produce una condensación entre los silanoles del silicato hidrolizado y el organosilano (ecuación 5.1):



permaneciendo los grupos orgánicos unidos al esqueleto silícico mediante puentes siloxano $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$.

En nuestro caso (Figura 5.2) una película CNF-SEP-CNT (50-50, 4%) se ha mantenido a reflujo con una mezcla al 50% de isopropanol y HCl concentrado, adicionando posteriormente 3-mercaptopropiltrimetoxisilano, como se describe en el capítulo 2 (apartado 2.3.6). La película de biohíbrido así tratada fue analizada mediante EDX para determinar la presencia y distribución de los diferentes elementos introducidos mediante este tratamiento químico.

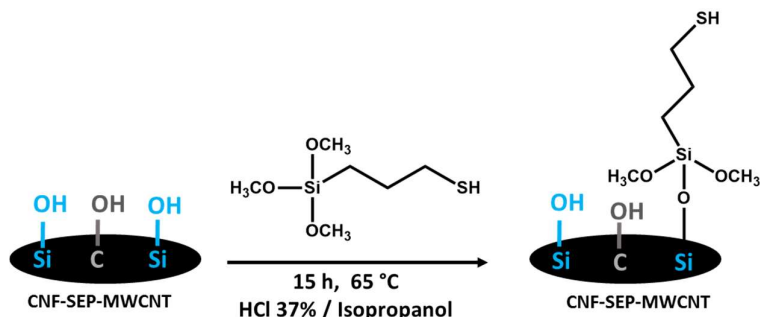


Figura 5.2. Esquema de la reacción de silanización por co-hidrolisis de un biohíbrido CNF-SEP.

Se puede observar por EDX la presencia de los distintos elementos mayoritarios esperables en las fibras (Si, C, O, Mg y S), así como átomos de S esperables en la muestra tratada con el mercaptosilano, todos ellos distribuidos homogéneamente en la superficie de la película CNF-SEP-CNT (50-50, 4%). En la Tabla 5.1, se muestran los valores aproximados (se trata de una técnica analítica semicuantitativa) de los porcentajes de los diferentes elementos antes y después del tratamiento. Se observa que tras la reacción el contenido en azufre es del 8,3 % en peso, de acuerdo con la reacción de injerto del silano portador de grupos mercapto o tioles al residuo silícico de la sepiolita. Este residuo silícico se produce por la extracción de iones Mg^{2+} debido al medio fuertemente ácido y que se refleja por la disminución casi total de estos iones de acuerdo con los datos de EDX. Es también de destacar que en este proceso el contenido en carbono y en silicio es algo superior tras la reacción en que ambos elementos se incorporan al formar parte del reactivo empleado (mercaptosilano).

Tabla 5.1. Porcentaje de elementos presentes en la superficie de la película modificada determinados por EDX.

Elementos analizados	Película sin modificar		Película modificada	
	masa (%)	relación atómica (%)	masa (%)	relación atómica (%)
C	21,4	32,2	28,5	40,5
O	34,5	38,9	36,3	38,7
Mg	12,9	9,6	0,7	0,5
Si	24,6	15,8	25,7	15,6
S	0,1	0,06	8,3	4,4

Esta funcionalización de las películas de biohíbridos CNF-SEP dopadas con MWCNT permite introducir grupos –SH con capacidad potencial de reaccionar ulteriormente con otras especies orgánicas para dar lugar a nuevos materiales y posiblemente a nuevas aplicaciones. Por tanto, estos materiales pueden ser por ejemplo de interés en su incorporación en cauchos conteniendo enlaces insaturados residuales capaces de reaccionar con los grupos tioles. Este sería el caso del caucho natural y otros sintéticos similares, poliestireno, etc, los cuales podrían presentar una conductividad electrónica debido a la presencia de los nanotubos de carbono. Por su parte, la presencia de sílice (ex-sepiolita) proporcionaría una carga reforzante a la matriz polimérica, a la cual estaría ligada mediante enlaces de tipo covalente. Esta línea de actividad representa una de las opciones futuras de continuación de la presente investigación.

Otra posible aplicación resultante de este tipo de modificación química, es su empleo como electrodo, en principio aprovechable como fase activa para la detección de iones de metales pesados (por ejemplo, plomo, mercurio o cadmio) que presentan afinidad hacia los grupos –SH. En este caso la aplicación de la técnica de voltamperometría cíclica, podría ser básica para la determinación cuantitativa de los citados iones en medio acuoso.

Es obvio que las opciones de modificación química son numerosísimas, pero no cabe duda de que estos resultados preliminares abren la puerta a la obtención de nuevos tipos de materiales funcionales que además de las propiedades ya incorporadas por el híbrido sobre el que se ha realizado, incorpora las propias de la funcionalización química en este caso centradas en la reactividad de las fibras de sepiolita.

El hecho de que la superficie del híbrido CNF-SEP, presente grupos hidroxilo, aldehído y carboxilo ligados en este caso a la nanocelulosa, debe permitir gran número de funcionalizaciones, de las que aquí solo se ha abordado una pequeña parte en calidad de prueba de concepto al tratarse de una línea que por su extensión no es posible ni aconsejable tratar con mayor profundidad en esta Tesis Doctoral. Una ventaja que presentan estas películas es su estabilidad cuando son sumergidas en agua u otros disolventes evitando problemas de hinchamiento. Este hecho no solo es aprovechable para la consecución de derivados por tratamiento con reactivos diversos sino para generar *in situ* nanopartículas. En bibliografía se han encontrado varios ejemplos, en los que precisamente se emplea esta opción en una película de celulosa generando nanopartículas de Fe_2O_3 (Yadav y col. 2015) y en otro, aprovechan la presencia de grupos carboxilato para anclar nanopartículas de plata (Dong y col. 2013).

5.2. Adsorción de especies contaminantes y otras aplicaciones potenciales

Otra aplicación del híbrido CNF-SEP se refiere a su capacidad de adsorción de especies contaminantes presentes en medios acuosos. Por un lado, la sepiolita es ampliamente conocida por sus propiedades absorbentes basadas en su gran superficie específica y porosidad, grupos silanoles, etc, y por otro lado las fibras CNF, muestran igualmente gran capacidad de adsorción debido a la presencia de grupos funcionales en su superficie. En este sentido, Srivastava y colaboradores describen la capacidad de absorción de Ni^{2+} , Cr^{3+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} por parte de fibras tipo CNF con grupos carboxilato, con una eficacia entre 3 y 10% superior a la que pueden presentar las fibras de celulosa sin grupos carboxilato (Srivastava y col. 2012). La incorporación de cisteína determina la presencia de grupos -SH que permiten captar Cr (VI) y Pb (II) (Carpenter y

col. 2015) representando una alternativa a la funcionalización por modificación de la sepiolita con mercaptosilanos arriba expuesta. Igualmente ha sido demostrada la capacidad de la CNF para adsorber contaminantes orgánicos tras ciertas modificaciones de sus superficies, como, por ejemplo, la incorporación de silanos hidrofóbicos que permite generar un material repelente al agua de utilidad en la eliminación de compuestos orgánicos en aguas contaminadas (Zhang y col. 2014).

Para evaluar la capacidad de adsorción de compuestos orgánicos por parte de los materiales biohíbridos CNF-SEP, se han realizado diversos ensayos, habiéndose seleccionado el colorante catiónico azul de metileno (AM) como modelo de adsorbato, ya que resulta fácil de monitorizar mediante espectrofotometría UV-Visible. En la Figura 5.2 se muestran los resultados de algunos de estos ensayos.

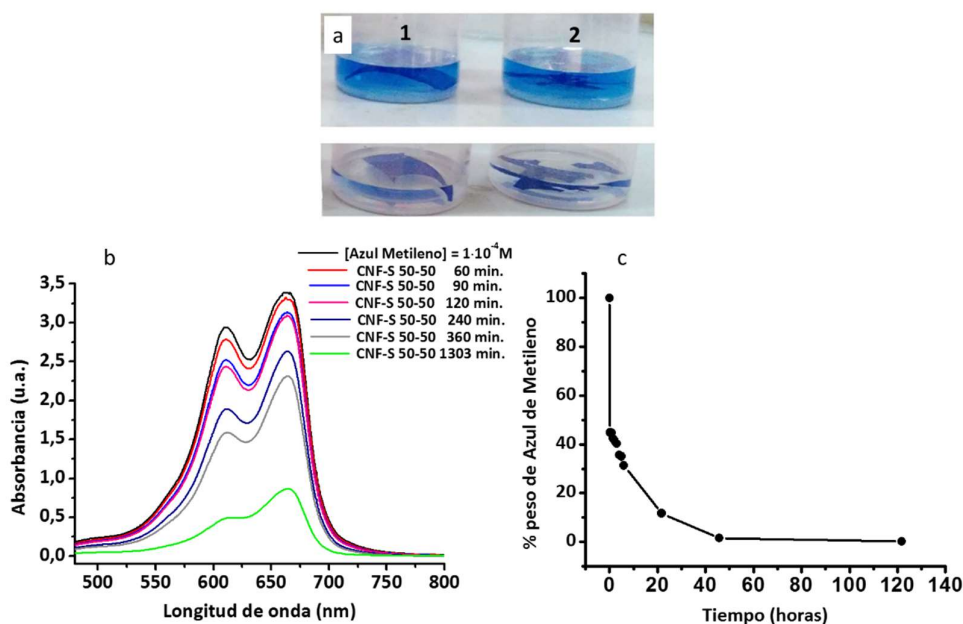


Figura 5.2. Adsorción de azul de metileno: a) Fotografías de viales con las películas exclusivamente de CNF (1) y del material híbrido CNF-SEP 50-50 (2); b) espectros de absorción UV-Vis de AM en presencia de la película del biohíbrido CNF-SEP 50-50 a diferentes tiempos, c) variación de la concentración de AM en función del tiempo de contacto.

En las condiciones experimentales adoptadas, se puede apreciar que la adsorción es prácticamente total y que ésta se produce de manera muy rápida, de

acuerdo con las correspondientes cinéticas. La capacidad de adsorción de este colorante ha sido de 49,35 mg/g. Sería preciso realizar medidas complementarias con otros colorantes, como son los de tipo aniónico (ejemplo, Rojo Congo) que permitan corroborar la capacidad de adsorción de los biohíbridos, tratando de evaluar posibles adsorciones de tipo específico en función de la carga eléctrica, del volumen molecular, etc del adsorbato.

Por otra parte, una característica importante que presentan ambas fibras es su biocompatibilidad ya que procede de componentes que lo son de manera independiente. En efecto, la nanocelulosa ha experimentado un rápido desarrollo como un material prometedor en aplicaciones biomédicas, debido a propiedades como su biodegradabilidad y baja toxicidad. Así, las fibras de nanocelulosa ya han sido ampliamente usadas en implantes médicos, ingeniería de tejidos, liberación controlada de fármacos, aplicaciones cardiovasculares y cicatrización de heridas (Jorfi y Foster 2015). Se pueden encontrar muchos ejemplos en los que el material desarrollado es un material composite, como el desarrollado por Chenghong y colaboradores constituido por celulosa procedente de fibras de algodón y nano-hidroxiapatito; este tipo de material es empleado en la regeneración de tejido óseo (Ao y col. 2017).

Además, existe un número importante de aplicaciones de arcillas de diversa naturaleza en biomedicina (Carretero 2002). Se conocen varios materiales basados en arcillas y carbohidratos con aplicaciones biomédicas, como, por ejemplo, el bionanocomposite preparado mediante ensamblado de quitosano y montmorillonita. Estos materiales fueron descritos por primera vez en nuestro grupo de investigación (Darder y col. 2003) y posteriormente Salcedo y colaboradores, mostraron además de la biocompatibilidad, la capacidad de estimular la proliferación celular, favoreciendo la cicatrización de heridas (Salcedo y col. 2012). Estos ejemplos y otros más llevan a plantearse posibles aplicaciones biomédicas del material híbrido CNF-SEP, siendo quizás algunas de las más prometedoras, la liberación controlada de fármacos y el desarrollo de materiales para la cicatrización de heridas ya que algunas de las características que presentan es que pueden ser sintetizados con una composición, forma y tamaño controlados y además sus propiedades de superficie pueden ser

moduladas para aumentar su solubilidad, inmunocompatibilidad o adsorción celular (Goldberg y col. 2007).

En conclusión, tras los ejemplos anteriormente expuestos, demuestran que los materiales biohíbridos obtenidos presentan capacidad de funcionalización por métodos químicos sus fibras con posterioridad a su preparación y que, por tanto, su potencial interés aplicativo en diversos campos puede sin duda ser sin duda ampliado al poder introducir nuevas funciones deseables para otras aplicaciones.

6.CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

Conclusiones Generales y Perspectivas

De acuerdo con los objetivos inicialmente planteados en esta Tesis Doctoral, se han preparado nuevos materiales biohíbridos mediante ensamblado de nanofibras de celulosa y sepiolita, cuyos resultados más significativos se pueden agrupar en los siguientes bloques:

1. Preparación, conformación y caracterización de biohíbridos heterofibrosos. Mediante aplicación de procesos de homogeneización empleando tratamientos de alta cizalla e irradiación de ultrasonidos a una mezcla de nanofibras de celulosa y sepiolita en medio acuoso, se han logrado preparar geles de materiales biohíbridos heterofibrosos de elevada viscosidad y estabilidad. Estos geles se pueden conformar fácilmente como películas delgadas por procedimientos de *casting* o de filtración a vacío. Diversas técnicas de caracterización de estas películas heterofibrosas, especialmente las de tipo espectroscópico, han confirmado que las interacciones de corto alcance entre ambos tipos de nanofibras, orgánicas e inorgánicas, quedan establecidas principalmente mediante enlaces de hidrógeno entre grupos hidroxilo de los dos componentes. Mediante otro tipo de técnicas se han determinado diferentes características del material biohíbrido, así, mediante técnicas de microscopía (FE-SEM, AFM, STEM) se ha podido corroborar el ensamblaje entre ambos tipos de fibras, la morfología y homogeneidad del material resultante, además de la distribución de las fibras inorgánicas con respecto a las fibras orgánicas, utilizando en este caso microscopía confocal. A partir de resultados de difracción de rayos X y estudios de dicroísmo mediante espectroscopía infrarroja, se han obtenido resultados que revelan la influencia a organizar una orientación preferencial de unas fibras respecto a otras dependiendo de la proporción de ambas. Del estudio de las isothermas de adsorción de nitrógeno se deduce que el material biohíbrido resultante presenta características texturales diferentes a las de los materiales de partida, obteniéndose materiales dotados de porosidad y superficie específica apreciable al combinar sepiolita con nanofibras de celulosa, siendo las películas basadas en estas últimas materiales no porosos o compactos de muy baja superficie

específica. El estudio de las isothermas de adsorción de agua, ha permitido conocer una característica interesante del material biohíbrido resultante como es la posibilidad de modificar su hidrofobicidad, lo cual se logra modificando el contenido en sepiolita que modula las interacciones interfibrilares. Además, se observa que la carga superficial de las nanofibras de celulosa, ejerce un importante papel en el carácter hidrofóbico, observándose que los materiales biohíbridos constituidos por nanofibras de celulosa con menor carga superficial presentan mayor carácter hidrofóbico que aquellos constituidos por nanofibras de mayor carga. Estos resultados relativos al carácter hidrofílico/hidrofóbico se han corroborado mediante estudio del ángulo de contacto. El análisis térmico ha revelado que el material biohíbrido presenta mayor estabilidad térmica que las nanofibras de celulosa por sí solas. Además, se observa que se producen mejoras en las propiedades mecánicas de las nanofibras de celulosa ya que a medida que aumenta la proporción de sepiolita en los materiales biohíbridos se observa un aumento del módulo de Young, reduciéndose los correspondientes valores de elongación a la rotura. Con respecto a otras propiedades de las películas de biohíbridos puede concluirse que inhiben el paso de la luz UV y que, además, el material biohíbrido mantiene su integridad incluso cuando se sumerge en agua durante largo tiempo, dando idea de la íntima interacción que se establece entre sus dos elementos nanofibrosos constituyentes.

2. Funcionalización de los materiales biohíbridos conformados como películas. Las películas obtenidas pueden ser consideradas como *nanopapel híbrido* que, como se ha concluido en el punto anterior, muestran interesantes propiedades superficiales y mecánicas, siendo posible su ulterior funcionalización por reacción con diversos reactivos, así como mediante ensamblado de nanopartículas de diferente naturaleza, tales como nanotubos de carbono y nanopartículas de óxidos metálicos. De esta manera, los materiales biohíbridos pueden dar lugar a materiales nanoestructurados provistos de las propiedades que les confiere su modificación posterior. Algunos ejemplos representativos de los diversos tipos de materiales funcionales que pueden prepararse a partir de los materiales biohíbridos son:

A) Ensamblado con nanotubos de carbono multipared (MWCNTs).

La presencia de sepiolita en el entramado fibroso que constituye el material biohíbrido, ha favorecido la dispersión de los MWCNTs en medio acuoso actuando como co-dispersante, bajo la acción de tratamiento por ultrasonidos, impidiendo por razones estéricas que los nanotubos se agreguen de nuevo. La incorporación de estos nanotubos modifica la capacidad de adsorción de agua del material biohíbrido debido principalmente al carácter hidrofóbico de estos. Además, ha permitido dotar de conductividad eléctrica al material biohíbrido haciéndolo susceptible de ser aplicado como fase activa de sensores, demostrando su aplicabilidad al ser empleado como sensor de humedad.

B) Ensamblado con nanopartículas de magnetita.

La incorporación de nanopartículas de magnetita ha permitido dotar de propiedades magnéticas al material biohíbrido. La presencia de sepiolita ha jugado aquí un papel importante en lograr dispersiones homogéneas de las mismas en el entramado fibroso del biohíbrido.

C) Ensamblado con nanopartículas de ZnO.

El ensamblado de nanopartículas de ZnO ha permitido dotar al material biohíbrido de fotoactividad. La presencia de sepiolita ha permitido igualmente aquí lograr una dispersión homogénea de las nanopartículas, en este caso de ZnO recién sintetizadas, al favorecer su integración en el gel del material biohíbrido. El material resultante es una película fotoactiva que muestra aplicabilidad como fotocatalizador en la degradación de compuestos orgánicos.

La metodología de base para la preparación de los estos biohíbridos funcionales se ha mantenido en líneas generales en las diferentes preparaciones llevadas a cabo, debiendo ser adaptada y optimizada en cada caso dependiendo de la naturaleza de la nanopartícula a incorporar con vistas a nuevas funcionalizaciones.

3. Relevancia de los materiales biohíbridos desarrollados e implicaciones futuras. En base a las propiedades desarrolladas, se abre camino al futuro aprovechamiento de los materiales heterofibrosos conformados como películas, ya que son susceptibles de recibir aplicaciones potenciales como membranas para diversos procesos de separación, por ejemplo, de gases, en procesos de catálisis, efecto barrera para envasado de alimentos y fármacos, etc. Su funcionalización constituye además una aproximación al desarrollo de fases activas de sensores, tanto por su conductividad como por sus propiedades magnéticas.

Por otro lado, la capacidad de formación de geles acuosos homogéneos y estables permite no solo incorporar otras especies químicas y/o nanopartículas sino también lograr nuevos tipos de conformación como por ejemplo espumas biohíbridas mediante liofilización de los geles, lo cual puede aprovecharse en nuevos usos.

Las actividades futuras en esta línea de investigación también podrían contemplar la funcionalización por reacción con organosilanos tal y como se ha explorado en este trabajo de Tesis Doctoral, con posibilidad futura de empleo de otro tipo de reactivos orgánicos como por ejemplo isocianatos y epóxidos, con el fin de aprovechar la reactividad de los abundantes hidroxilos pertenecientes a grupos C-OH y Si-OH en los nanocomponentes orgánicos e inorgánicos. Es posible producir entrecruzamientos entre nanofibras por empleo de compuestos bifuncionales del tipo de los dialdehídos o diisocianatos para lograr materiales híbridos con propiedades mecánicas modulables. Además, estos nuevos materiales biohíbridos ofrecen posibilidades interesantes para aplicaciones biomédicas y biotecnológicas en vista de la probada biocompatibilidad de ambos componentes y de su capacidad de funcionalización.

Este trabajo trata por tanto de un nuevo tipo de materiales biohíbridos de gran versatilidad no solo por su interés puramente académico, sino por la gran amplitud de sus potenciales aplicaciones que ofrecen las propiedades de los mismos. Esta investigación abre pues camino a una investigación futura para optimizar estos materiales o para su ensamblado con nuevos sistemas poliméricos como carbohidratos funcionales, ácidos nucleicos, partículas virales, etc., que puede ofrecer nuevas alternativas en las aplicaciones hoy día llamadas *avanzadas*.

ANEXO 1. OXIDACIÓN MEDIADA POR TEMPO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOFIBRAS OBTENIDAS

1.1. Procedimiento de oxidación mediado por TEMPO

Las nanofibras de celulosa (CNF) utilizadas en esta Tesis Doctoral han sido suministradas por el Grupo LEPAMAP (Laboratori d'Enginyeria Paperera i Materials Polímers) del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Gerona, y fueron preparadas a partir de pulpa blanqueada de Eucaliptus. Las fibras de celulosa son re-suspendidas en agua (100 mL) y se le adiciona el radical 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo (TEMPO; 0,016 g, 0,1 mmol) junto con bromuro sódico (0,1 g, 1 mmol). La oxidación mediada por TEMPO comienza mediante la incorporación de la cantidad apropiada de una disolución de NaClO al 12% en la que se ha ajustado el pH a 10 mediante la adición de 0,1 M HCl (1,3 – 5,0 mmol NaClO por gramo de celulosa), manteniéndose en agitación a 500 rpm y temperatura ambiente. El pH se mantiene a 10 mediante la adición de una disolución de hidróxido sódico 0,5 M controlando el proceso usando un pH-metro. La adición se realiza hasta que se observa que no hay consumo del hidróxido sódico añadido. La celulosa oxidada con TEMPO se lava abundantemente con agua, se separa mediante filtración y se almacena a 4 °C para posteriores análisis. Para la obtención de la nanofibras, la celulosa, tratada con TEMPO se somete a un proceso de desfibración o separación en fibras que consiste en pasar la suspensión acuosa de esta pulpa al 1-2 % m/v a través de un homogeneizador de alta presión (NS1001L PANDA 2K-GEA). Se establecen como condiciones de operación de este equipo 600 bares y una temperatura de trabajo que se mantiene en el rango de 60-70 °C. Este proceso se repite varias veces hasta obtener un gel transparente.

1.2. Caracterización de las nanofibras de celulosa

A continuación, se incluye una breve descripción de los ensayos habitualmente realizados para determinar algunas de las propiedades que caracterizan a las nanofibras de celulosa obtenidas en el proceso anteriormente descrito:

- *Grado de polimerización.* Su determinación se realiza a través de medidas de la viscosidad intrínseca aplicando la norma UNE 57-039-92. El peso molecular medio fue calculado mediante la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada:

$$\eta = K \cdot DP^a$$

donde “ η ” es la viscosidad intrínseca, “ K ” y “ a ” son constantes empíricas del polímero y del disolvente cuyos valores definidos en la bibliografía son $K = 2,28$ y $a = 0,76$ (Henriksson y col. 2008) y “ DP ” es el grado de polimerización.

- *Valor de retención de agua.* Conocido por sus siglas en inglés “WRV” (*water retention value*). Esta metodología está basada en el método TAPPY UM 256. El valor promedio de WRV es calculado mediante la ecuación:

$$WRV (\%) = \frac{W_w - W_d}{W_d} \times 100$$

donde W_w es el peso de gel húmedo (g) y W_d el peso en seco (g) de la CNF contenida en ese gel.

Para determinar W_w y W_d el gel de CNF se separa en dos partes, una de ellas se pesa para obtener W_w y la otra se centrifuga a 2400 rpm durante 30 minutos para eliminar el agua no enlazada. Para retener las fibras, se emplea un filtro de nitrocelulosa con un tamaño de poro de $0,65 \mu m$ que se coloca en la parte inferior de los botes de centrífuga. Una vez centrifugado, la membrana es retirada, pesada y secada a $105 \pm 2 \text{ } ^\circ C$ durante 24 horas en un recipiente previamente pesado obteniéndose W_d .

- *Contenido en carboxilos.* Este parámetro es calculado mediante valoración conductimétrica. Para ello una muestra del gel se seca, se pesan 50-100 mg y se resuspende esta CNF en 15 mL de disolución 0,01 M de HCl, produciéndose el intercambio de los cationes sodio que se encuentran unidos a los grupos ácido carboxílico por iones hidrógeno. Después de 10 minutos de agitación magnética, esta suspensión es valorada con una disolución 0,01 M de NaOH, adicionando volúmenes de 0,1 mL mientras se mide la conductividad en mS/cm; este proceso es repetido hasta observar una reducción, estabilización y un incremento en la conductividad, tal y como se puede observar en la Figura 1.1.

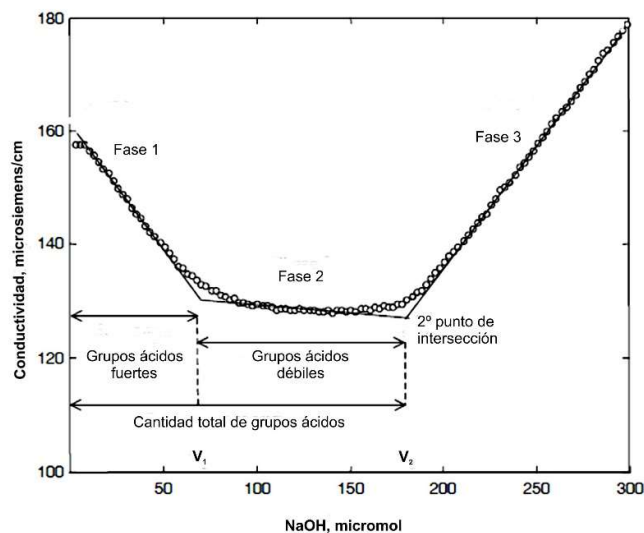


Figura 1.1. Determinación de la cantidad total de grupos carboxilo mediante valoración conductimétrica.

El contenido de carboxilos se obtiene mediante la ecuación:

$$CC = 162(V_2 - V_1)c[w-36(V_2 - V_1)c]^{-1}$$

donde V_1 y V_2 son los volúmenes de la disolución de NaOH (L), “c” es la concentración de NaOH (mol/L) y “w” es el peso de la muestra seca (g). El valor resultante indica el promedio de mmoles de grupos –COOH por gramo de CNF.

- *Demanda catiónica.* Se determina mediante un detector de carga de partícula Mütek PCD 04. Se parte de 0,04 gramos de CNF (masa seca) y se le adiciona 1 litro de agua, dispersándose con un desintegrador de pulpa durante 10 minutos a 3000 rpm. A 10 mL de esta mezcla se le adicionan 25 mL del polímero catiónico cloruro de poli-dialildimetilamonio (poliDADMAC) que es agitado durante 5 minutos mediante agitación magnética. Esta mezcla se centrifuga durante 90 minutos a 4000 rpm y posteriormente se analizan 10 mL del sobrenadante con el detector de carga de partícula. Se adiciona el polímero aniónico polietilensulfato de sodio (PES-Na) gota a gota con una pipeta hasta que se alcanza un valor de 0 mV, que indica que se ha neutralizado la carga. El volumen de polímero aniónico consumido es usado para calcular la demanda catiónica mediante la siguiente ecuación:

$$CD = - \frac{(C_{PolyD} \cdot V_{PolyD}) - (V_{PESNa} \cdot C_{PES-Na})}{W_{muestra}}$$

donde CD es la demanda catiónica ($\mu\text{eq/L}$), C_{PolyD} es la concentración del polímero catiónico (g/L), V_{PolyD} es el volumen del polímero catiónico (mL), C_{PES-Na} es la concentración del polímero aniónico (g/L), V_{PES-Na} es el volumen usado del polímero aniónico (mL) y $W_{muestra}$ es el peso de CNF como muestra seca (g).

- **Rendimiento:** Para la determinación del rendimiento, se centrifuga una suspensión de CNF con un 0,2% de contenido en sólido a 4500 rpm durante 20 minutos, aislándose la fracción de nanofibras de celulosa (contenida en el sobrenadante) y separándola así de la celulosa que se encuentra parcialmente desfibrada que queda retenida cuando se decanta el sobrenadante. La parte retenida se pesa y se seca a continuación en un horno a 90°C hasta alcanzar una masa constante. El rendimiento de la desfibración a nanoescala se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$Rendimiento (\%) = \left[1 - \frac{\text{peso del sedimento seco}}{\text{peso de la muestra diluida} \times Sc} \right] \times 100$$

donde “Sc” representa el contenido en sólido de la muestra de gel diluida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdollahi, M., M. Alboofetileh, M. Rezaei and R. Behrooz (2013). "Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers." *Food Hydrocolloids* 32(2): 416-424.

Agarwal, H., S. Venkat Kumar and S. Rajeshkumar "A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach." *Resource-Efficient Technologies*.

Ahlrichs, J. L., C. Serna and J. M. Serratosa (1975). "Structural hydroxyls in sepiolites." *Clays and Clay Minerals* 23(2): 119-124.

Akkari, M., P. Aranda, H. Ben Rhaïem, A. B. H. Amara and E. Ruiz-Hitzky (2016). "ZnO/clay nanoarchitectures: Synthesis, characterization and evaluation as photocatalysts." *Applied Clay Science* 131: 131-139.

Al-Hamadani, Y. A. J., K. H. Chu, A. Son, J. Heo, N. Her, M. Jang, C. M. Park and Y. Yoon (2015). "Stabilization and dispersion of carbon nanomaterials in aqueous solutions: A review." *Separation and Purification Technology* 156: 861-874.

Alcantara, A. C. S., M. Darder, P. Aranda, A. Ayrál and E. Ruiz-Hitzky (2016). "Bionanocomposites based on polysaccharides and fibrous clays for packaging applications." *Journal of Applied Polymer Science* 133(2).

Alcântara, A. C. S., M. Darder, P. Aranda and E. Ruiz-Hitzky (2014). "Polysaccharide–fibrous clay bionanocomposites." *Applied Clay Science* 96: 2-8.

Alekseeva, O. V., A. N. Rodionova, N. A. Bagrovskaya, A. V. Agafonov and A. V. Noskov (2017). "Hydroxyethyl cellulose/bentonite/magnetite hybrid materials: structure, physicochemical properties, and antifungal activity." *Cellulose* 24(4): 1825-1836.

Almeida, T. P., A. R. Muxworthy, A. Kovács, W. Williams, L. Nagy, P. Conbhuí, C. Frandsen, R. Supakulopas and R. E. Dunin-Borkowski (2016). "Direct observation of the thermal demagnetization of magnetic vortex structures in nonideal magnetite recorders." *Geophysical Research Letters*(43): 8426-8434.

Anbuvannan, M., M. Ramesh, G. Viruthagiri, N. Shanmugam and N. Kannadasan (2015). "Synthesis, characterization and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles prepared by biological method." *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 143: 304-308.

Ao, C., Y. Niu, X. Zhang, X. He, W. Zhang and C. Lu (2017). "Fabrication and characterization of electrospun cellulose/nano-hydroxyapatite nanofibers for bone tissue engineering." *International Journal of Biological Macromolecules* 97: 568-573.

Aranda, P., R. Kun, M. A. Martín-Luengo, S. Letaief, I. Dekany and E. Ruiz-Hitzky (2008). "Titania-Sepiolite nanocomposites prepared by a surfactant templating colloidal route." *Chemistry of Materials* 20(1): 84-91.

Aranda, P. and E. Ruiz-Hitzky (2016). Inorganic nanoarchitectures based on sepiolite. *Surface Modification of Clays and Nanocomposites*. G. Beall. University of Illinois. 20: 87-700.

Aranda, P., J. M. Serratos and E. Ruiz-Hitzky (2004). Clay-Organic Interactions: Organoclay complexes and polymer clay nanocomposites. *Handbook of Layered Materials*. P. K. Dutta y col. New York, CRC Press.

Ariga, K. (2012). Manipulation of Nanoscale Materials: An Introduction to Nanorarchitectonics. Ariga, K., Q. Ji, M. J. McShane, Y. M. Lvov, A. Vinu and J. P. Hill (2012). "Inorganic Nanoarchitectonics for Biological Applications." *Chemistry of Materials* 24(5): 728-737.

Ariga, K., Q. Ji, W. Nakanishi, J. P. Hill and M. Aono (2015). "Nanoarchitectonics: a new materials horizon for nanotechnology." *Materials Horizons* 2(4): 406-413.

Aulin, C., G. Salazar-Alvarez and T. Lindstrom (2012). "High strength, flexible and transparent nanofibrillated cellulose-nanoclay biohybrid films with tunable oxygen and water vapor permeability." *Nanoscale* 4(20): 6622-6628.

Avérous, L. and E. E. Pollet (2012). *Environmental Silicate Nano-Biocomposites*.

Avila Ramirez, J. A., C. Gomez Hoyos, S. Arroyo, P. Cerrutti and M. Laura Foresti (2016). "Acetylation of bacterial cellulose catalyzed by citric acid: Use of reaction conditions for tailoring the esterification extent." *Carbohydrate Polymers* 153: 686-695.

Balser, K., L. Hoppe, T. Eichler, M. Wendel and A. J. Astherimer (1986). *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (6th ed.). *Encyclopedia of Industrial Chemistry V*. Gerhartz y col., VCH, Weinheim. 5: 419-459.

Barrett, E. P., L. G. Joyner and P. P. Halenda (1951). "The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms." *Journal of the American Chemical Society* 73(1): 373-380.

Barron, P. F. and R. L. Frost (1985). "SOLID-STATE SI-29 NMR EXAMINATION OF THE 2-1 RIBBON MAGNESIUM SILICATES, SEPIOLITE AND PLYGORSKITE." *American Mineralogist* 70(7-8): 758-766.

Basak, E., T. Aydemir, A. Dincer and S. C. Becerik (2013). "Comperative study of catalase immobilization on chitosan, magnetic chitosan and chitosan-clay composite beads." *Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology* 41(6): 408-413.

Belbekhouche, S., J. Bras, G. Siqueira, C. Chappey, L. Lebrun, B. Khelifi, S. Marais and A. Dufresne (2011). "Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films." *Carbohydrate Polymers* 83(4): 1740-1748.

Bessadok, A., D. Langevin, F. Gouanvé, C. Chappey, S. Roudesli and S. Marais (2009). "Study of water sorption on modified Agave fibres." *Carbohydrate Polymers* 76(1): 74-85.

Brauner, K. and A. Pressinger (1956). "Struktur und entstehung des sepioliths." *Mineralogy and Petrology* 6: 120-140.

Brunauer, S., L. S. Deming, W. E. Deming and E. Teller (1940). "On a theory of the van der Waals adsorption of gases." *Journal of the American Chemical Society* 62: 1723-1732.

- Brunauer, S., P. H. Emmett and E. Teller (1938). "Adsorption of Gases in Multimolecular Layers." *Journal of the American Chemical Society* 60(2): 309-319.
- Cantow, H.-J. and R. Mülhaupt (2013). *Hermann Staudinger and Polymer Research in Freiburg. Hierarchical Macromolecular Structures: 60 Years after the Staudinger Nobel Prize I*. V. Percec. Cham, Springer International Publishing: 21-37.
- Carlsson, D. O., J. Lindh, M. Strømme and A. Mihranyan (2015). "Susceptibility of I α - and I β -Dominated Cellulose to TEMPO-Mediated Oxidation." *Biomacromolecules* 16(5): 1643-1649.
- Carpenter, A. W., C.-F. de Lannoy and M. R. Wiesner (2015). "Cellulose Nanomaterials in Water Treatment Technologies." *Environmental Science & Technology* 49(9): 5277-5287.
- Carretero, M. I. (2002). "Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review." *Applied Clay Science* 21(3): 155-163.
- Castro-Smirnov, F. A., O. Piétrement, P. Aranda, J.-R. Bertrand, J. Ayache, E. Le Cam, E. Ruiz-Hitzky and B. S. Lopez (2016). "Physical interactions between DNA and sepiolite nanofibers, and potential application for DNA transfer into mammalian cells." 6: 36341.
- Chaker, A. and S. Boufi (2015). "Cationic nanofibrillar cellulose with high antibacterial properties." *Carbohydrate Polymers* 131: 224-232.
- Chen, S., G. Schueneman, R. B. Pipes, J. Youngblood and R. J. Moon (2014). "Effects of Crystal Orientation on Cellulose Nanocrystals–Cellulose Acetate Nanocomposite Fibers Prepared by Dry Spinning." *Biomacromolecules* 15(10): 3827-3835.
- Chhipa, H. (2017). "Nanofertilizers and nanopesticides for agriculture." *Environmental Chemistry Letters* 15(1): 15-22.
- Cividanes, L. S., E. A. N. Simonetti, M. B. Moraes, F. W. Fernandes and G. P. Thim (2014). "Influence of carbon nanotubes on epoxy resin cure reaction using different techniques: A comprehensive review." *Polymer Engineering & Science* 54(11): 2461-2469.
- Colomban, P. (2009). "The Use of Metal Nanoparticles to Produce Yellow, Red and Iridescent Colour, from Bronze Age to Present Times in Lustre Pottery and Glass: Solid State Chemistry, Spectroscopy and Nanostructure." *Journal of Nano Research* 8: 109-132.
- Darder, M., M. Colilla and E. Ruiz-Hitzky (2003). "Biopolymer–Clay Nanocomposites Based on Chitosan Intercalated in Montmorillonite." *Chemistry of Materials* 15(20): 3774-3780.
- Darder, M., M. Lopez-Blanco, P. Aranda, A. J. Aznar, J. Bravo and E. Ruiz-Hitzky (2006). "Microfibrillar chitosan-sepiolite nanocomposites." *Chemistry of Materials* 18(6): 1602-1610.
- De Volder, M. F. L., S. H. Tawfick, R. H. Baughman and A. J. Hart (2013). "Carbon Nanotubes: Present and Future Commercial Applications." *Science* 339(6119): 535-539.
- Deepa, B., E. Abraham, N. Cordeiro, M. Mozetic, A. P. Mathew, K. Oksman, M. Faria, S. Thomas and L. A. Pothan (2015). "Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: a comparative study." *Cellulose* 22(2): 1075-1090.

- Delgado-Aguilar, M., I. Gonzalez, M. A. Pelach, E. De La Fuente, C. Negro and P. Mutje (2015). "Improvement of deinked old newspaper/old magazine pulp suspensions by means of nanofibrillated cellulose addition." *Cellulose* 22(1): 789-802.
- Domingues, R. M. A., M. E. Gomes and R. L. Reis (2014). "The Potential of Cellulose Nanocrystals in Tissue Engineering Strategies." *Biomacromolecules* 15(7): 2327-2346.
- Dong, H., J. F. Snyder, D. T. Tran and J. L. Leadore (2013). "Hydrogel, aerogel and film of cellulose nanofibrils functionalized with silver nanoparticles." *Carbohydrate Polymers* 95(2): 760-767.
- Dos Santos Coelho, F., J. D. Ardisson, F. C. C. Moura, R. M. Lago, E. Murad and J. D. Fabris (2008). "Potential application of highly reactive Fe(0)/Fe₃O₄ composites for the reduction of Cr(VI) environmental contaminants." *Chemosphere* 71(1): 90-96.
- Fall, A. B., S. B. Lindström, O. Sundman, L. Ödberg and L. Wågberg (2011). "Colloidal Stability of Aqueous Nanofibrillated Cellulose Dispersions." *Langmuir* 27(18): 11332-11338.
- Fattah, A. R. A., A. M. Abdalla, S. Mishriki, E. Meleca, F. Geng, S. Ghosh and I. K. Puri (2017). "Magnetic Printing of a Biosensor: Inexpensive Rapid Sensing To Detect Picomolar Amounts of Antigen with Antibody-Functionalized Carbon Nanotubes." *Acs Applied Materials & Interfaces* 9(13): 11790-11797.
- Fayazi, M., D. Afzali, M. A. Taher, A. Mostafavi and V. K. Gupta (2015). "Removal of Safranin dye from aqueous solution using magnetic mesoporous clay: Optimization study." *Journal of Molecular Liquids* 212: 675-685.
- Fernandes, F. M., I. Manjubala and E. Ruiz-Hitzky (2011). "Gelatin renaturation and the interfacial role of fillers in bionanocomposites." *Physical Chemistry Chemical Physics* 13(11): 4901-4910.
- Fernandes, F. M. and E. Ruiz-Hitzky (2014). "Assembling nanotubes and nanofibres: Cooperativeness in sepiolite-carbon nanotube materials." *Carbon* 72: 296-303.
- Fernandes, F. M., L. Vazquez, E. Ruiz-Hitzky, A. Carnicero and M. Castro (2014). "Elastic properties of natural single nanofibres." *Rsc Advances* 4(22): 11225-11231.
- Förch, R., H. Schönherr and A. T. A. Jenkins (2009). *Surface Design: Applications in Bioscience and Nanotechnology*, Wiley-VCH.
- Franklin, A. D., M. Luisier, S.-J. Han, G. Tulevski, C. M. Breslin, L. Gignac, M. S. Lundstrom and W. Haensch (2012). "Sub-10 nm Carbon Nanotube Transistor." *Nano Letters* 12(2): 758-762.
- Fratoddi, I., A. Bearzotti, I. Venditti, C. Cametti and M. V. Russo (2016). "Role of nanostructured polymers on the improvement of electrical response-based relative humidity sensors." *Sensors and Actuators B-Chemical* 225: 96-108.
- French, A. D. (2014). "Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs." *Cellulose* 21(2): 885-896.

- Fu, L., P. Zhou, S. Zhang and G. Yang (2013). "Evaluation of bacterial nanocellulose-based uniform wound dressing for large area skin transplantation." *Materials Science and Engineering: C* 33(5): 2995-3000.
- Gabr, M. H., N. T. Phong, M. A. Abdelkareem, K. Okubo, K. Uzawa, I. Kimpara and T. Fujii (2013). "Mechanical, thermal, and moisture absorption properties of nano-clay reinforced nano-cellulose biocomposites." *Cellulose* 20(2): 819-826.
- Galán, E. and A. Singer (2011). *Developments in Palygorskite-Sepiolite Research*, Elsevier.
- Gamelas, J. A. F. and E. Ferraz (2015). "Composite Films Based on Nanocellulose and Nanoclay Minerals as High Strength Materials with Gas Barrier Capabilities: Key Points and Challenges." *Bioresources* 10(4): 6310-6313.
- Georgakilas, V., K. Kordatos, M. Prato, D. M. Guldi, M. Holzinger and A. Hirsch (2002). "Organic Functionalization of Carbon Nanotubes." *Journal of the American Chemical Society* 124(5): 760-761.
- Goldberg, M., R. Langer and X. Jia (2007). "Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering." *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition* 18(3): 241-268.
- Gomez-Romero, P. (2001). "Hybrid organic-inorganic materials - In search of synergic activity." *Advanced Materials* 13(3): 163-174.
- Gong, B., T. Shi, G. Liao, X. Li, J. Huang, T. Zhou and Z. Tang (2017). "UV irradiation assisted growth of ZnO nanowires on optical fiber surface." *Applied Surface Science* 406: 294-300.
- Gonzalez-Alfaro, Y., P. Aranda, F. M. Fernandes, B. Wicklein, M. Darder and E. Ruiz-Hitzky (2011). "Multifunctional Porous Materials Through Ferrofluids." *Advanced Materials* 23(44): 5224-5228.
- Göpel, W., T. A. Jones, M. Kleitz, I. Lundström, T. Seiyama, J. Hesse and J. N. Zemel (2008). *Sensors, A Comprehensive Survey, Part II, Chemical and Biochemical Sensors*.
- Gouanvé, F., S. Marais, A. Bessadok, D. Langevin and M. Métayer (2007). "Kinetics of water sorption in flax and PET fibers." *European Polymer Journal* 43(2): 586-598.
- Gregg, S. J. and K. S. W. Sing (1982). *The Physical Adsorption of Gases by Nonporous Solids: the Type II Isotherms*. London, Academic Press.
- Guo, J., X. Guo, S. Wang and Y. Yin (2016). "Effects of ultrasonic treatment during acid hydrolysis on the yield, particle size and structure of cellulose nanocrystals." *Carbohydrate Polymers* 135: 248-255.
- Haafiz, M. K. M., A. Hassan, H. P. S. A. Khalil, I. Khan, I. M. Inuwa, M. S. Islam, M. S. Hossain, M. I. Syakir and M. R. N. Fazita (2015). "Bionanocomposite based on cellulose nanowhisker from oil palm biomass-filled poly(lactic acid)." *Polymer Testing* 48: 133-139.
- Habibi, Y., L. A. Lucia and O. J. Rojas (2010). "Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications." *Chemical Reviews* 110(6): 3479-3500.

- Hamada, N., S. Sawada and A. Oshiyama (1992). "NEW ONE-DIMENSIONAL CONDUCTORS - GRAPHITIC MICROTUBULES." *Physical Review Letters* 68(10): 1579-1581.
- Han, G. S., H.-W. Shim, S. Lee, M. L. Duff and J.-K. Lee (2017). "Low-Temperature Modification of ZnO Nanoparticles Film for Electron-Transport Layers in Perovskite Solar Cells." *ChemSusChem* 10(11): 2425-2430.
- Hashim, A. A. (2012). *The delivery of nanoparticles*. Rijeka, Croatia, Intechopen.
- Heidari, F., M. Razavi, M. E. Bahrololoom, R. Bazargan-Lari, D. Vashaee, H. Kotturi and L. Tayebi (2016). "Mechanical properties of natural chitosan/hydroxyapatite/magnetite nanocomposites for tissue engineering applications." *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications* 65: 338-344.
- Henriksson, M., L. A. Berglund, P. Isaksson, T. Lindström and T. Nishino (2008). "Cellulose Nanopaper Structures of High Toughness." *Biomacromolecules* 9(6): 1579-1585.
- Henriksson, M., G. Henriksson, L. A. Berglund and T. Lindström (2007). "An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers." *European Polymer Journal* 43(8): 3434-3441.
- Hielscher, T. (2005). *Production of Nano-Size Dispersions and Emulsions*, ENS, TIMA Editions: 138-143.
- Hon, D. N. S. (1994). "CELLULOSE - A RANDOM-WALK ALONG ITS HISTORICAL PATH." *Cellulose* 1(1): 1-25.
- Ifuku, S., M. Nogi, K. Abe, K. Handa, F. Nakatsubo and H. Yano (2007). "Surface Modification of Bacterial Cellulose Nanofibers for Property Enhancement of Optically Transparent Composites: Dependence on Acetyl-Group DS." *Biomacromolecules* 8(6): 1973-1978.
- Iijima, S. (1991). "HELICAL MICROTUBULES OF GRAPHITIC CARBON." *Nature* 354(6348): 56-58.
- Iijima, S. and T. Ichihashi (1993). "SINGLE-SHELL CARBON NANOTUBES OF 1-NM DIAMETER." *Nature* 363(6430): 603-605.
- Indira, T. K. and P. K. Lakshmi (2010). "Magnetic Nanoparticles - A review." *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* 3(3).
- Jackson, J. K., K. Letchford, B. Z. Wasserman, L. Ye, W. Y. Hamad and H. M. Burt (2011). "The use of nanocrystalline cellulose for the binding and controlled release of drugs." *International Journal of Nanomedicine* 6: 321-330.
- Jiang, F. and Y.-L. Hsieh (2014). "Super water absorbing and shape memory nanocellulose aerogels from TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils via cyclic freezing-thawing." *Journal of Materials Chemistry A* 2(2): 350-359.
- Johansson, L. S. and J. M. Campbell (2004). "Reproducible XPS on biopolymers: cellulose studies." *Surface and Interface Analysis* 36(8): 1018-1022.
- Jorfi, M. and E. J. Foster (2015). "Recent advances in nanocellulose for biomedical applications." *Journal of Applied Polymer Science* 132(14): n/a-n/a.

Klein, C. and H. Cornelius S. (2003). Manual de mineralogía (cuarta edición), Editorial Reverté, S.A.

Klemm, D., F. Kramer, S. Moritz, T. Lindstrom, M. Ankerfors, D. Gray and A. Dorris (2011). "Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials." *Angewandte Chemie-International Edition* 50(24): 5438-5466.

Klingshirn, C. (2007). "ZnO: From basics towards applications." *Physica Status Solidi B-Basic Solid State Physics* 244(9): 3027-3073.

Kochumalayil, J. J., M. Bergenstrahle-Wohlert, S. Utsel, L. Wagberg, Q. Zhou and L. A. Berglund (2013). "Bioinspired and Highly Oriented Clay Nanocomposites with a Xyloglucan Biopolymer Matrix: Extending the Range of Mechanical and Barrier Properties." *Biomacromolecules* 14(1): 84-91.

Koga, H., T. Saito, T. Kitaoka, M. Nogi, K. Suganuma and A. Isogai (2013). "Transparent, Conductive, and Printable Composites Consisting of TEMPO-Oxidized Nanocellulose and Carbon Nanotube." *Biomacromolecules* 14(4): 1160-1165.

Kolhatkar, A., A. Jamison, D. Litvinov, R. Willson and T. Lee (2013). "Tuning the Magnetic Properties of Nanoparticles." *International Journal of Molecular Sciences* 14(8): 15977.

Korhonen, J. T., P. Hiekkataipale, J. Malm, M. Karppinen, O. Ikkala and R. H. A. Ras (2011). "Inorganic Hollow Nanotube Aerogels by Atomic Layer Deposition onto Native Nanocellulose Templates." *ACS Nano* 5(3): 1967-1974.

Krässig, H., R. G. Steadman, K. Schliefer and W. Albrecht (1986). *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. W. Gerhartz y col., VCH, Weinheim. 5: 413-415.

Kuang, W. X., G. A. Facey, C. Detellier, B. Casal, J. M. Serratosa and E. Ruiz-Hitzky (2003). "Nanostructured hybrid materials formed by sequestration of pyridine molecules in the tunnels of sepiolite." *Chemistry of Materials* 15(26): 4956-4967.

Lee, K. M., C. W. Lai, K. S. Ngai and J. C. Juan (2016). "Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review." *Water Research* 88: 428-448.

Li, W., J. Yue and S. Liu (2012). "Preparation of nanocrystalline cellulose via ultrasound and its reinforcement capability for poly(vinyl alcohol) composites." *Ultrasonics Sonochemistry* 19(3): 479-485.

Li, Y., H. Zhu, H. Gu, H. Dai, Z. Fang, N. J. Weadock, Z. Guo and L. Hu (2013). "Strong transparent magnetic nanopaper prepared by immobilization of Fe₃O₄ nanoparticles in a nanofibrillated cellulose network." *Journal of Materials Chemistry A* 1(48): 15278-15283.

Liimatainen, H., M. Visanko, J. Sirviö, O. Hormi and J. Niinimäki (2013). "Sulfonated cellulose nanofibrils obtained from wood pulp through regioselective oxidative bisulfite pre-treatment." *Cellulose* 20(2): 741-749.

Lin, N. and A. Dufresne (2014). "Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect." *European Polymer Journal* 59: 302-325.

- Liu, K., M. Cao, A. Fujishima and L. Jiang (2014). "Bio-Inspired Titanium Dioxide Materials with Special Wettability and Their Applications." *Chemical Reviews* 114(19): 10044-10094.
- Liu, K., H. Liang, J. Nasrallah, L. Chen, L. Huang and Y. Ni (2016). "Preparation of the CNC/Ag/beeswax composites for enhancing antibacterial and water resistance properties of paper." *Carbohydrate Polymers* 142: 183-188.
- Liu, X. and K.-Q. Zhang (2014). *Silk Fiber — Molecular Formation Mechanism, Structure-Property Relationship and Advanced Applications. Oligomerization of Chemical and Biological Compounds*. C. Lesieur. Rijeka, InTech: Ch. 03.
- Liu, Y., K. Gordeyeva and L. Bergström (2017). "Steady-shear and viscoelastic properties of cellulose nanofibril–nanoclay dispersions." *Cellulose* 24(4): 1815-1824.
- Liu, Y., S. Yu, R. Feng, A. Bernard, Y. Liu, Y. Zhang, H. Duan, W. Shang, P. Tao, C. Song and T. Deng (2015). "A Bioinspired, Reusable, Paper-Based System for High-Performance Large-Scale Evaporation." *Advanced Materials* 27(17): 2768-2774.
- Lizundia, E., A. Urruchi, J. L. Vilas and L. M. León (2016). "Increased functional properties and thermal stability of flexible cellulose nanocrystal/ZnO films." *Carbohydrate Polymers* 136: 250-258.
- Luo, X., A. Morrin, A. J. Killard and M. R. Smyth (2006). "Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors." *Electroanalysis* 18(4): 319-326.
- Lvov, Y., B. Guo and R. Fakhrullin (2016). *Functional Polymer Composites with Nanoclays*.
- Ma, M., Y. Zhang, W. Yu, H.-y. Shen, H.-q. Zhang and N. Gu (2003). "Preparation and characterization of magnetite nanoparticles coated by amino silane." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 212(2): 219-226.
- Marandi, G. B., Z. P. Kermani and M. Kurdtabar (2013). "Fast and Efficient Removal of Cationic Dyes From Aqueous Solution by Collagen-Based Hydrogel Nanocomposites (vol 52, pg 310, 2013)." *Polymer-Plastics Technology and Engineering* 52(9): 955-955.
- Martinez, R. V., N. S. Losilla, J. Martinez, Y. Huttel and R. Garcia (2007). "Patterning polymeric structures with 2 nm resolution at 3 nm half pitch in ambient conditions." *Nano Letters* 7(7): 1846-1850.
- Martins, N. C. T., C. S. R. Freire, C. P. Neto, A. J. D. Silvestre, J. Causio, G. Baldi, P. Sadocco and T. Trindade (2013). "Antibacterial paper based on composite coatings of nanofibrillated cellulose and ZnO." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 417: 111-119.
- Matuana, L. M., J. J. Balatinecz, R. N. S. Sodhi and C. B. Park (2001). "Surface characterization of esterified cellulosic fibers by XPS and FTIR spectroscopy." *Wood Science and Technology* 35(3): 191-201.
- Mi, H.-Y., X. Jing, M. R. Salick, T. M. Cordie and L.-S. Turng (2016). "Carbon nanotube (CNT) and nanofibrillated, cellulose (NFC) reinforcement effect on thermoplastic polyurethane (TPU) scaffolds fabricated via phase separation using dimethyl sulfoxide (MOO) as solvent." *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 62: 417-427.

- Mirri, F., A. W. K. Ma, T. T. Hsu, N. Behabtu, S. L. Eichmann, C. C. Young, D. E. Tsentalovich and M. Pasquali (2012). "High-Performance Carbon Nanotube Transparent Conductive Films by Scalable Dip Coating." *ACS Nano* 6(11): 9737-9744.
- Mirzaei, H. and M. Darroudi (2017). "Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications." *Ceramics International* 43(1, Part B): 907-914.
- Mittal, M. (2011). *Nanocomposites with Degradable Properties: Synthesis, Properties and Future Perspectives*, Oxford University Press Inc., Nueva York.
- Momma, K. and F. Izumi (2011). "VESTA 3 for three-dimensional visualization of crystal, volumetric and morphology data." *Journal of Applied Crystallography*(44): 1272-1276.
- Moniruzzaman, M. and K. I. Winey (2006). "Polymer Nanocomposites Containing Carbon Nanotubes." *Macromolecules* 39(16): 5194-5205.
- Moon, R. J., A. Martini, J. Nairn, J. Simonsen and J. Youngblood (2011). "Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites." *Chemical Society Reviews* 40(7): 3941-3994.
- Nanot, S., A. W. Cummings, C. L. Pint, A. Ikeuchi, T. Akiho, K. Sueoka, R. H. Hauge, F. Léonard and J. Kono (2013). "Broadband, Polarization-Sensitive Photodetector Based on Optically-Thick Films of Macroscopically Long, Dense, and Aligned Carbon Nanotubes." 3: 1335.
- Nechyporchuk, O., M. N. Belgacem and J. Bras (2016). "Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances." *Industrial Crops and Products* 93: 2-25.
- Odom, T. W., J. L. Huang, P. Kim and C. M. Lieber (1998). "Atomic structure and electronic properties of single-walled carbon nanotubes." *Nature* 391(6662): 62-64.
- Okpalugo, T. I. T., P. Papakonstantinou, H. Murphy, J. McLaughlin and N. M. D. Brown (2005). "High resolution XPS characterization of chemical functionalised MWCNTs and SWCNTs." *Carbon* 43(1): 153-161.
- Omri, K., I. Najeh, R. Dhahri, J. El Ghouli and L. El Mir (2014). "Effects of temperature on the optical and electrical properties of ZnO nanoparticles synthesized by sol-gel method." *Microelectronic Engineering* 128: 53-58.
- Orelma, H., I. Filpponen, L.-S. Johansson, M. Osterberg, O. J. Rojas and J. Laine (2012). "Surface Functionalized Nanofibrillar Cellulose (NFC) Film as a Platform for Immunoassays and Diagnostics." *Biointerphases* 7(1-4).
- Pääkkö, M., M. Ankerfors, H. Kosonen, A. Nykänen, S. Ahola, M. Österberg, J. Ruokolainen, J. Laine, P. T. Larsson, O. Ikkala and T. Lindström (2007). "Enzymatic Hydrolysis Combined with Mechanical Shearing and High-Pressure Homogenization for Nanoscale Cellulose Fibrils and Strong Gels." *Biomacromolecules* 8(6): 1934-1941.
- Padilla-Ortega, E., M. Darder, P. Aranda, R. F. Gouveia, R. Leyva-Ramos and E. Ruiz-Hitzky (2016). "Ultrasound assisted preparation of chitosan-vermiculite bionanocomposite foams for cadmium uptake." *Applied Clay Science* 130: 40-49.

- Pan, B. and B. Xing (2008). "Adsorption Mechanisms of Organic Chemicals on Carbon Nanotubes." *Environmental Science & Technology* 42(24): 9005-9013.
- Patterson, G. (2012). *A Prehistory of Polymer Science SpringerBriefs in History of Chemistry*.
- Payen, A. (1838). *Comptes rendus hebdomadaires des séances de L'Académie des Sciences*. Paris (France), Académie des Sciences - Bachelier: 1025.
- Pinnavaia, T. J. and G. W. Beall (2000). *Polymer-Clay Nanocomposites*.
- Poletto, M., V. Pistor and A. J. Zattera Structural Characteristics and Thermal Properties of Native Cellulose. *Cellulose - Fundamental Aspects*. T. van de Ven y col., Intech.
- Qi, H., B. Schulz, T. Vad, J. Liu, E. Mäder, G. Seide and T. Gries (2015). "Novel Carbon Nanotube/Cellulose Composite Fibers As Multifunctional Materials." *Acs Applied Materials & Interfaces* 7(40): 22404-22412.
- Qing, Y., R. Sabo, Y. Wu and Z. Cai (2012). "HIGH-PERFORMANCE CELLULOSE NANOFIBRIL COMPOSITE FILMS." *Bioresources* 7(3): 3064-3075.
- Rhim, J.-W. (2011). "Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films." *Carbohydrate Polymers* 86(2): 691-699.
- Robles, E., I. Urruzola, J. Labidi and L. Serrano (2015). "Surface-modified nano-cellulose as reinforcement in poly(lactic acid) to conform new composites." *Industrial Crops and Products* 71: 44-53.
- Rouquerol, J., F. Rouquerol, P. Llewellyn, G. Maurin and K. Sing (1999). *Adsorption by powders and Porous solids. Principles, methodology and applications*, Academic Press.
- Rowland, S. P. and E. J. Roberts (1972). "The nature of accessible surfaces in the microstructure of cotton cellulose." *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry* 10(8): 2447-2461.
- Ruiz-Hitzky, E. and J. J. Fripiat (1976). "Organic Derivatives of Silicates. 3. Vinyl Derivative of Sepiolite." *Bulletin de la Société de France*: 1341-1348.
- Ruiz-Hitzky, E. (1974). *Contribution à l'étude des réactions de greffage de groupements organiques sur les surfaces minérales. Greffage de la sepiolite*. Ph.D. Thesis, Université Catholique de Louvain.
- Ruiz-Hitzky, E. (2001). "Molecular access to intracrystalline tunnels of sepiolite." *Journal of Materials Chemistry* 11(1): 86-91.
- Ruiz-Hitzky, E. (2017). *Fluorescencia intrínseca de la sepiolita*.
- Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda, A. Alvarez, J. Santarén and A. Esteban-Cubillo (2011). *Advanced Materials and New Applications of Sepiolite and Palygorskite. Developments in Palygorskite-Sepiolite Research. A New Outlook on these Nanomaterials*. E. Galán y col. Oxford, UK, Elsevier B.V.: 393-452.
- Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda and M. Darder (2000). *Bionanocomposites. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, John Wiley & Sons, Inc.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda and M. Darder (2007). "Bio-nanocomposites: nuevos materiales ecológicos, biocompatibles y funcionales." *Anales de Química* 103(1): 21-29.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda and M. Darder (2008). *Bionanocomposites*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Hoboken, NJ, John Wiley & Sons: 1-28.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda and M. Darder (2009). Polymer and Biopolymer-Layered Solid Nanocomposites: Organic-Inorganic Assembling in Two-Dimensional Hybrid Systems. *Bottom-up Nanofabrication Supramolecules, Self-Assemblies, and Organized Films*. K. Ariga y col., American Sci. Pub., Stevenson Ranch (California, EEUU): 39-76.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda and M. Darder (2010). *Progress in bionanocomposite materials*, World Scientific Publishing Co.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda and M. Darder (2015). Hybrid and Biohybrid Materials Based on Layered Clays. *Tailored Organic-Inorganic Materials*. E. Brunet y col., John Wiley & Sons Inc. : 245-297.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda and M. Darder (2015). Hybrid Nanomaterials: Organic-Inorganic Hybrid and Biohybrid Nanomaterials. *CRC Concise Encyclopedia of Nanotechnology*. C. Press: 330-346.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda, M. Darder and M. Ogawa (2011). "Hybrid and biohybrid silicate based materials: molecular vs. block-assembling bottom-up processes." *Chemical Society Reviews* 40(2): 801-828.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda, M. Darder and G. Rytwo (2010). "Hybrid materials based on clays for environmental and biomedical applications." *Journal of Materials Chemistry* 20(42): 9306-9321.

Ruiz-Hitzky, E., K. Ariga and Y. M. Lvov (2007). *Bio-inorganic Hybrid Nanomaterials: Strategies, Synthesis, Characterization and Applications*, Wiley.

Ruiz-Hitzky, E., M. Darder, A. C. S. Alcantara, B. Wicklein and P. Aranda (2015). Recent Advances on Fibrous Clay-Based Nanocomposites. *Organic-Inorganic Hybrid Nanomaterials*. S. Kalia y col. 267: 39-86.

Ruiz-Hitzky, E., M. Darder, F. M. Fernandes, B. Wicklein, A. C. S. Alcantara and P. Aranda (2013). "Fibrous clays based bionanocomposites." *Progress in Polymer Science* 38(10-11): 1392-1414.

Ruiz-Hitzky, E., P. Gómez-Romero and C. Sanchez (2003). *Organic-Inorganic Materials: From Intercalation Chemistry to Devices*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Ruiz-Hitzky, E., M. M. C. Sobral, A. Gomez-Aviles, C. Nunes, C. Ruiz-Garcia, P. Ferreira and P. Aranda (2016). "Clay-Graphene Nanoplatelets Functional Conducting Composites." *Advanced Functional Materials* 26(41): 7394-7405.

Sadiq, M., G. Zamin, Razia and M. Ilyas (2014). "Synthesis and Characterization of Iron Oxide Nanoparticles Supported on Ziconia and Its Application in the Gas-Phase Oxidation of Cyclohexanol to Cyclohexanone." *Modern Research in Catalysis* 3(1): 12-17.

- Saito, R., M. Fujita, G. Dresselhaus and M. S. Dresselhaus (1992). "ELECTRONIC-STRUCTURE OF CHIRAL GRAPHENE TUBULES." *Applied Physics Letters* 60(18): 2204-2206.
- Saito, R., M. Fujita, G. Dresselhaus and M. S. Dresselhaus (1992). "ELECTRONIC-STRUCTURE OF GRAPHENE TUBULES BASED ON C-60." *Physical Review B* 46(3): 1804-1811.
- Saito, T., M. Hirota, N. Tamura, S. Kimura, H. Fukuzumi, L. Heux and A. Isogai (2009). "Individualization of Nano-Sized Plant Cellulose Fibrils by Direct Surface Carboxylation Using TEMPO Catalyst under Neutral Conditions." *Biomacromolecules* 10(7): 1992-1996.
- Saito, T., S. Kimura, Y. Nishiyama and A. Isogai (2007). "Cellulose Nanofibers Prepared by TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose." *Biomacromolecules* 8(8): 2485-2491.
- Salajkova, M., L. Valentini, Q. Zhou and L. A. Berglund (2013). "Tough nanopaper structures based on cellulose nanofibers and carbon nanotubes." *Composites Science and Technology* 87: 103-110.
- Salata, O. (2004). "Applications of nanoparticles in biology and medicine." *Journal of Nanobiotechnology* 2(1): 3.
- Salcedo, I., C. Aguzzi, G. Sandri, M. C. Bonferoni, M. Mori, P. Cerezo, R. Sanchez, C. Viseras and C. Caramella (2012). "In vitro biocompatibility and mucoadhesion of montmorillonite chitosan nanocomposite: A new drug delivery." *Applied Clay Science* 55: 131-137.
- Sanchez, C., P. Belleville, M. Popall and L. Nicole (2011). "Applications of advanced hybrid organic-inorganic nanomaterials: from laboratory to market." *Chemical Society Reviews* 40(2): 696-753.
- Sanchez del Rio, M., P. Martinetto, C. Reyes-Valerio, E. Dooroyhee and M. Suarez (2006). "SYNTHESIS AND ACID RESISTANCE OF MAYA BLUE PIGMENT." *Archaeometry*, Wiley 48(1): 115-130.
- Santarén, J., J. Sanz and E. Ruiz-Hitzky (1990). "Structural fluorine in sepiolite." *Clay Minerals* 38: 63-68.
- Santos, C. S. C., B. Gabriel, M. Blanchy, O. Menes, D. García, M. Blanco, N. Arconada and V. Neto (2015). "Industrial Applications of Nanoparticles – A Prospective Overview." *Materials Today: Proceedings* 2(1): 456-465.
- Santos de Alcântara, A. (2013). *Bio-Hybrid materials based on Zein: Synthetic approaches, characterization and exploration of properties*, Universidad Autónoma de Madrid.
- Sanz, J. (1990). *Distribution of ions in phyllosilicates by NMR spectroscopy. _Absorption Spectroscopy in Mineralogy*. A. Mottana y col. Amsterdam, Elsevier: 103-144.
- Shafizadeh, F. and A. G. W. Bradbury (1979). "Thermal degradation of cellulose in air and nitrogen at low temperatures." *Journal of Applied Polymer Science* 23(5): 1431-1442.
- Shalaby, T. I., M. F. El-Kady, A. E. H. M. Zaki and S. M. El-Kholy (2017). "Preparation and application of magnetite nanoparticles immobilized on cellulose acetate nanofibers for lead removal from polluted water." *Water Science and Technology: Water Supply* 17(1): 176-187.

Shearer, C. J., A. Cherevan and D. Eder (2014). "Application and Future Challenges of Functional Nanocarbon Hybrids." *Advanced Materials* 26(15): 2295-2318.

Shearer, C. J., A. Fahy, M. Barr, P. C. Dastoor and J. G. Shapter (2012). "Improved field emission stability from single-walled carbon nanotubes chemically attached to silicon." *Nanoscale Research Letters* 7.

Shi, Z., G. O. Phillips and G. Yang (2013). "Nanocellulose electroconductive composites." *Nanoscale* 5(8): 3194-3201.

Shuali, U., M. Steinberg, S. Yariv, M. Mullervonmoos, G. Kahr and A. Rub (1990). "THERMAL-ANALYSIS OF SEPIOLITE AND PALYGORSKITE TREATED WITH BUTYLAMINE." *Clay Minerals* 25(1): 107-119.

Simon, P. and Y. Gogotsi (2008). "Materials for electrochemical capacitors." *Nat Mater* 7(11): 845-854.

Siqueira, G., J. Bras and A. Dufresne (2010). "Cellulosic Bionanocomposites: A Review of Preparation, Properties and Applications." *Polymers* 2(4): 728.

Sirvio, J. A., M. Visanko, O. Laitinen, A. Ammala and H. Liimatainen (2016). "Amino-modified cellulose nanocrystals with adjustable hydrophobicity from combined regioselective oxidation and reductive amination." *Carbohydrate Polymers* 136: 581-587.

Sirviö, J. A., M. Visanko, O. Laitinen, A. Ämmälä and H. Liimatainen (2016). "Amino-modified cellulose nanocrystals with adjustable hydrophobicity from combined regioselective oxidation and reductive amination." *Carbohydrate Polymers* 136: 581-587.

Smits, F. M. (1958). "Measurement of Sheet Resistivities with the Four-Point Probe." *Bell System Technical Journal* 37(3): 711-718.

Soheilmoghaddam, M., M. U. Wahit, A. A. Yussuf, M. A. Al-Saleh and W. T. Whye (2014). "Characterization of bio regenerated cellulose/sepiolite nanocomposite films prepared via ionic liquid." *Polymer Testing* 33: 121-130.

Song, J. and O. J. Rojas (2013). "Approaching super-hydrophobicity from cellulosic materials: A Review." *Nordic Pulp & Paper Research Journal* 28(2): 216-238.

Srivastava, S., A. Kardam and K. R. Raj (2012). "Nanotech Reinforcement onto Cellulosic Fibers: Green Remediation of Toxic Metals." *International Journal of Green Nanotechnology* 4(1): 46-53.

Stark, W. J., P. R. Stoessel, W. Wohlleben and A. Hafner (2015). "Industrial applications of nanoparticles." *Chemical Society Reviews* 44(16): 5793-5805.

Stauffer, D. and A. Aharony (2010). *Introduction to Percolation Theory*, Taylor & Francis.

Stoica-Guzun, A., M. Stroescu, S. I. Jinga, N. Mihalache, A. Botez, C. Matei, D. Berger, C. M. Damian and V. Ionita (2016). "Box-Behnken experimental design for chromium(VI) ions removal by bacterial cellulose-magnetite composites." *International Journal of Biological Macromolecules* 91: 1062-1072.

Su, D., L. Jiang, X. Chen, J. Dong and Z. Shao (2016). "Enhancing the Gelation and Bioactivity of Injectable Silk Fibroin Hydrogel with Laponite Nanoplatelets." *Acs Applied Materials & Interfaces* 8(15): 9619-9628.

Susan-Resiga, D. and L. Vékás (2016). "Ferrofluid-based magnetorheological fluids: tuning the properties by varying the composition at two hierarchical levels." *Rheologica Acta* 55(7): 581-595.

Tang, L., B. Huang, Q. Lu, S. Wang, W. Ou, W. Lin and X. Chen (2013). "Ultrasonication-assisted manufacture of cellulose nanocrystals esterified with acetic acid." *Bioresource Technology* 127: 100-105.

Tasis, D., N. Tagmatarchis, A. Bianco and M. Prato (2006). "Chemistry of Carbon Nanotubes." *Chemical Reviews* 106(3): 1105-1136.

Teja, A. S. and P.-Y. Koh (2009). "Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles." *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* 55(1): 22-45.

Traversa, E. (1995). "CERAMIC SENSORS FOR HUMIDITY DETECTION - THE STATE-OF-THE-ART AND FUTURE-DEVELOPMENTS." *Sensors and Actuators B-Chemical* 23(2-3): 135-156.

Trifol, J., D. Plackett, C. Sillard, O. Hassager, A. E. Daugaard, J. Bras and P. Szabo (2016). "A comparison of partially acetylated nanocellulose, nanocrystalline cellulose, and nanoclay as fillers for high-performance polylactide nanocomposites." *Journal of Applied Polymer Science* 133(14): n/a-n/a.

Tsoufis, T., F. Katsaros, B. J. Kooi, E. Bletsas, S. Papageorgiou, Y. Deligiannakis and I. Panagiotopoulos (2017). "Halloysite nanotube-magnetic iron oxide nanoparticle hybrids for the rapid catalytic decomposition of pentachlorophenol." *Chemical Engineering Journal* 313: 466-474.

Urbina, L., I. Algar, C. García-Astrain, N. Gabilondo, A. González, M. Corcuera, A. Eceiza and A. Retegi (2016). "Biodegradable composites with improved barrier properties and transparency from the impregnation of PLA to bacterial cellulose membranes." *Journal of Applied Polymer Science* 133(28): n/a-n/a.

Usov, I., G. Nyström, J. Adamcik, S. Handschin, C. Schütz, A. Fall, L. Bergström and R. Mezzenga (2015). "Understanding nanocellulose chirality and structure-properties relationship at the single fibril level." *6*: 7564.

van der Pauw, L. J. (1958). "A Method of measuring specific resistivity and hall effect of disc of arbitrary shape." *Philips Research Reports* 13: 1-9.

Van Son, N., D. Rouxel, B. Vincent, L. Badie, F. D. Dos Santos, E. Lamouroux and Y. Fort (2013). "Influence of cluster size and surface functionalization of ZnO nanoparticles on the morphology, thermomechanical and piezoelectric properties of P(VDF-TrFE) nanocomposite films." *Applied Surface Science* 279: 204-211.

Waldron, R. D. (1955). "Infrared Spectra of Ferrites." *Physical Review* 99(6): 1727-1735.

Wang Lin, Z. (2004). "Nanostructures of zinc oxide." *Materials Today*.

- Wang, M., A. Olszewska, A. Walther, J.-M. Malho, F. H. Schacher, J. Ruokolainen, M. Ankerfors, J. Laine, L. A. Berglund, M. Österberg and O. Ikkala (2011). "Colloidal Ionic Assembly between Anionic Native Cellulose Nanofibrils and Cationic Block Copolymer Micelles into Biomimetic Nanocomposites." *Biomacromolecules* 12(6): 2074-2081.
- Wang, Y., J. W. Shan and G. J. Weng (2015). "Percolation threshold and electrical conductivity of graphene-based nanocomposites with filler agglomeration and interfacial tunneling." *Journal of Applied Physics* 118(6): 065101.
- Weber, C. J., V. Haugaard, R. Festersen and G. Bertelsen (2002). "Production and applications of biobased packaging materials for the food industry." *Food Additives and Contaminants* 19: 172-177.
- White, L. A. (2004). "Preparation and thermal analysis of cotton–clay nanocomposites." *Journal of Applied Polymer Science* 92(4): 2125-2131.
- Wicklein, B., A. Kocjan, G. Salazar-Alvarez, F. Carosio, G. Camino, M. Antonietti and L. Bergström (2015). "Thermally insulating and fire-retardant lightweight anisotropic foams based on nanocellulose and graphene oxide." *Nature Nanotechnology* 10(3): 277-283.
- Wicklein, B., A. Kocjan, G. Salazar-Alvarez, F. Carosio, G. Camino, M. Antonietti and L. Bergström (2015). "Thermally insulating and fire-retardant lightweight anisotropic foams based on nanocellulose and graphene oxide." *Nat Nano* 10(3): 277-283.
- Wicklein, B. and G. Salazar-Alvarez (2013). "Functional hybrids based on biogenic nanofibrils and inorganic nanomaterials." *Journal of Materials Chemistry A* 1(18): 5469-5478.
- Wildoer, J. W. G., L. C. Venema, A. G. Rinzler, R. E. Smalley and C. Dekker (1998). "Electronic structure of atomically resolved carbon nanotubes." *Nature* 391(6662): 59-62.
- Wu, C.-N., T. Saito, S. Fujisawa, H. Fukuzumi and A. Isogai (2012). "Ultrastrong and High Gas-Barrier Nanocellulose/Clay-Layered Composites." *Biomacromolecules* 13(6): 1927-1932.
- Wu, C.-N., T. Saito, Q. Yang, H. Fukuzumi and A. Isogai (2014). "Increase in the Water Contact Angle of Composite Film Surfaces Caused by the Assembly of Hydrophilic Nanocellulose Fibrils and Nanoclay Platelets." *Acs Applied Materials & Interfaces* 6(15): 12707-12712.
- Wu, C.-N., Q. Yang, M. Takeuchi, T. Saito and A. Isogai (2014). "Highly tough and transparent layered composites of nanocellulose and synthetic silicate." *Nanoscale* 6(1): 392-399.
- Wu, C. N., T. Saito, S. Fujisawa, H. Fukuzumi and A. Isogai (2012). "Ultrastrong and High Gas-Barrier Nanocellulose/Clay-Layered Composites." *Biomacromolecules* 13(6): 1927-1932.
- Xiao, L., Z. Chen, C. Feng, L. Liu, Z.-Q. Bai, Y. Wang, L. Qian, Y. Zhang, Q. Li, K. Jiang and S. Fan (2008). "Flexible, Stretchable, Transparent Carbon Nanotube Thin Film Loudspeakers." *Nano Letters* 8(12): 4539-4545.
- Xu, W. G., S. F. Liu, S. X. Lu, S. Y. Kang, Y. Zhou and H. F. Zhang (2010). "Photocatalytic degradation in aqueous solution using quantum-sized ZnO particles supported on sepiolite." *Journal of Colloid and Interface Science* 351(1): 210-216.

- Yadav, M., S. Mun, J. Hyun and J. Kim (2015). "Synthesis and characterization of iron oxide/cellulose nanocomposite film." *International Journal of Biological Macromolecules* 74: 142-149.
- Yang, Q., T. Saito and A. Isogai (2012). "Facile fabrication of transparent cellulose films with high water repellency and gas barrier properties." *Cellulose* 19(6): 1913-1921.
- Yoo, K.-P., L.-T. Lim, N.-K. Min, M. J. Lee, C. J. Lee and C.-W. Park (2010). "Novel resistive-type humidity sensor based on multiwall carbon nanotube/polyimide composite films." *Sensors and Actuators B-Chemical* 145(1): 120-125.
- Yuan, Y. and T. R. Lee (2013). *Contact Angle and Wetting Properties. Surface Science Techniques*. G. Bracco y col. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 3-34.
- Zampetti, E., S. Pantalei, A. Pecora, A. Valletta, L. Maiolo, A. Minotti, A. Macagnano, G. Fortunato and A. Bearzotti (2009). "Design and optimization of an ultra thin flexible capacitive humidity sensor." *Sensors and Actuators B-Chemical* 143(1): 302-307.
- Zeng, M., A. Laromaine, W. Feng, P. A. Levkin and A. Roig (2014). "Origami magnetic cellulose: controlled magnetic fraction and patterning of flexible bacterial cellulose." *Journal of Materials Chemistry C* 2(31): 6312-6318.
- Zeng, X., L. Deng, Y. Yao, R. Sun, J. Xu and C.-P. Wong (2016). "Flexible dielectric papers based on biodegradable cellulose nanofibers and carbon nanotubes for dielectric energy storage." *Journal of Materials Chemistry C* 4(25): 6037-6044.
- Zhang, L., T. Wang, Z. Shen and M. Liu (2016). "Chiral Nanoarchitectonics: Towards the Design, Self-Assembly, and Function of Nanoscale Chiral Twists and Helices." *Advanced Materials* 28(6): 1044-1059.
- Zhang, X., F. Shi, J. Niu, Y. Jiang and Z. Wang (2008). "Superhydrophobic surfaces: from structural control to functional application." *Journal of Materials Chemistry* 18(6): 621-633.
- Zhang, Z., G. Sèbe, D. Rentsch, T. Zimmermann and P. Tingaut (2014). "Ultralightweight and Flexible Silylated Nanocellulose Sponges for the Selective Removal of Oil from Water." *Chemistry of Materials* 26(8): 2659-2668.
- Zhao, H.-P., X.-Q. Feng and H. Gao (2007). "Ultrasonic technique for extracting nanofibers from nature materials." *Applied Physics Letters* 90(7).
- Zhao, R., P. Torley and P. J. Halley (2008). "Emerging biodegradable materials: starch- and protein-based bio-nanocomposites." *Journal of Materials Science* 43(9): 3058-3071.
- Zhou, X., C. Fang, Y. Li, N. An and W. Lei (2016). "Preparation and characterization of Fe₃O₄-CNTs magnetic nanocomposites for potential application in functional magnetic printing ink." (89): 295-302.
- Zou, Q., K. Liu, M. Abbas and X. Yan (2016). "Peptide-Modulated Self-Assembly of Chromophores toward Biomimetic Light-Harvesting Nanoarchitectonics." *Advanced Materials* 28(6): 1031-1043.

Zugenmaier, P. (2001). "Conformation and packing of various crystalline cellulose fibers." Progress in Polymer Science 26(9): 1341-1417.

Zugenmaier, P. (2009). "CONTRIBUTION TO THE HISTORICAL DEVELOPMENT OF MACROMOLECULAR CHEMISTRY - EXEMPLIFIED ON CELLULOSE." Cellulose Chemistry and Technology 43(9-10): 351-378.